

УДК 616.98:579.852.13

Современные представления об инфекции *Clostridium difficile*

Ю.В. Лобзин, С.М. Захаренко, Г.А. Иванов

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия

Clostridium difficile является основным возбудителем нозокомиальной диареи, связанной с назначением антимикробных препаратов. Однако данной проблеме в нашей стране не уделяется достаточного внимания. В настоящем обзоре литературы рассмотрены вопросы эпидемиологии *C. difficile*-инфекции, особенности взаимодействия *C. difficile* с макроорганизмом и роль факторов патогенности. Описаны клинические формы *C. difficile*-ассоциированных болезней: от бессимптомного носительства до псевдомемб-

ранозного колита. Дана сравнительная характеристика методов диагностики инфекции *C. difficile*. Изложены основные современные принципы лечения манифестных форм инфекции. Большое внимание уделено вопросам специфической терапии и проведения мероприятий по восстановлению микробиоценоза кишечника.

Ключевые слова: *C. difficile*, антибиотикоассоциированная диарея, антибактериальная терапия, *C. difficile*-ассоциированная диарея, псевдомембранозный колит.

Current Understanding of *Clostridium difficile* Infection

Yu.V. Lobzin, S.M. Zakharenko, G.A. Ivanov

Academy of Military Medicine, Saint-Petersburg, Russia

At the present time *Clostridium difficile* is the main causative pathogen of nosocomial diarrhea, that linked to the use of antimicrobials. But at the same time there is an unjustified little attention paid to this problem in Russia. In the present literature review the following topics are described in details: the epidemiology of *C. difficile*-infection; the microorganism – macroorganism interaction and the role of dif-

ferent factors of pathogenesis; the clinical manifestation of different *C. difficile*-associated pathologies; the comparative characteristic of different methods for the diagnosis of *C. difficile*-infection; recent approaches to the therapy of this infection.

Key words: *C. difficile*, antibiotic-associated diarrhea, antibacterial therapy, *C. difficile*-associated diarrhea, pseudomembranous colitis.

Контактный адрес:
Юрий Владимирович Лобзин
Факс: (812) 329-71-65
Эл. почта: ylob@mail.admiral.ru

Введение

Истинное число случаев острой инфекционной диареи не совпадает с официально регистрируемой заболеваемостью и на порядок превосходит количество обращений за медицинской помощью по данному поводу. По оценке W.E. Garthright и соавт., в США ежегодно регистрируются 25–99 млн случаев острых диарейных заболеваний, вызванных инфекционными причинами [1].

По данным Центра Госсанэпиднадзора Санкт-Петербурга, острые кишечные инфекции в структуре госпитальных инфекций занимают второе место после гнойно-септических инфекций и составляют 0,74 на 1000 выписанных пациентов [2].

Анализ заболеваемости и смертности, проведенный в США, показал, что летальность от протозойных и вирусных диарей и диарей неустановленной этиологии с 1980 по 1992 г. оставалась относительно постоянной. В то же время летальность от диарей бактериальной этиологии возросла более чем на 60%: с 0,06 на 100 000 населения в 1980 г. до 0,104 в 1994 г. ($p < 0,00001$). При этом рост летальности за счет «прочих бактериальных возбудителей» был наиболее значительным – от 0,0102 на 100 000 населения до 0,0821 ($p < 0,000001$).

Анализ структуры заболеваемости и летальности от «прочих бактериальных диарей» в период 1993–1996 гг. в штате Нью-Мехико показал, что в 73% случаев этиологическим агентом служила *C. difficile*. В выданных в штате Вашингтон в 1985–1996 гг. свидетельствах о случаях смерти, связанных с диареями, вызванными «прочими бактериальными агентами», возбудителем в 88% была *C. difficile* [3].

Статистические данные о частоте инфекции *C. difficile* официально признаются неточными, поскольку значительное количество внутри- и внебольничных диарей, связанных с применением антибактериальных препаратов, не регистрируется. С другой стороны, не во всех случаях расшифровывается их этиология.

C. difficile в настоящее время признается в качестве одного из наиболее частых возбудителей *антибиотикоассоциированных диарей* (ААД) и колита, микроорганизмом, ответственным за развитие подавляющего большинства случаев антибиотикоассоциированного *псевдомембранозного колита* (ПМК). Необходимо отметить, что *C. difficile* – не единственная причина ААД, хотя и является наиболее изученной [4].

Данные о частоте *C. difficile*-ассоциированных заболеваний в разных странах различны. Однако очевидно, что широкое и неконтролируемое приме-

нение антибиотиков будет приводить к увеличению их числа.

ААД – одно из осложнений лечения антибиотиками, встречается у 5–25% пациентов, получающих эти препараты [5]. Частота развития ААД зависит от используемых препаратов, влияния различных факторов риска и отмечается в ортопедических, акушерско-гинекологических, хирургических и других стационарах, отделениях трансплантации и у пациентов, получающих лечение амбулаторно [6].

ААД – полиэтиологическое состояние, обусловлено в 15–25% случаев *C. difficile* [7].

Отсутствие отечественных диагностических систем, питательных сред для выделения *C. difficile* и их высокая стоимость являются одной из причин «низкой» частоты регистрации этой инфекции в нашей стране и, как следствие, недостаточного внимания, уделяемого столь важному вопросу [8, 9]. Вместе с тем число зарегистрированных случаев инфекции *C. difficile* составляет в разных странах от десятков тысяч до нескольких миллионов в год [3, 10–13]. Именно это обстоятельство и обуславливает необходимость выделения инфекции *C. difficile* из группы «прочих бактериальных диарей» в самостоятельную проблему, требующую тщательного изучения и контроля.

История вопроса

Впервые ПМК описан в 1893 г. J.M. Finney [14]. У 22-летней пациентки на 10-е сутки после операции на желудке развилась тяжелая кровянистая диарея, приведшая к летальному исходу. Обнаруженные при патологоанатомическом исследовании изменения в кишечнике были описаны как «дифтеритический колит».

До начала эры антибиотиков ПМК оставался относительно редким заболеванием. Ежегодно регистрировалось 3–4 его случая после обширных операций. Однако диагноз у таких больных устанавливался только на аутопсии по характерным изменениям в кишечнике [8].

С началом эры антибиотиков число больных ПМК стало заметно увеличиваться.

В 1948 г. появилось описание случая, связанного с гибелью грудного ребенка в результате энтерита, развившегося после перорального применения стрептомицина. Этиологическим фактором тогда был назван *Staphylococcus aureus*. Позднее I.L. Bennet и соавт. повторно исследовали образцы материала, полученного J.M. Finney, в которых обнаружили «большое количество грамположительных кокков» [15].

В 50–60-х годах стали появляться сообщения о развитии стафилококкового энтероколита, этиоло-

гия которого подтверждалась выделением *S. aureus* из фекалий и патогистологического материала, полученных от пациентов с ААД. В нескольких исследованиях *S. aureus* был выделен из псевдомембран кишечника.

На основании результатов этих исследований, совпавших с периодом широкого распространения антибактериальной терапии, золотистый стафилококк был признан этиологической причиной этого состояния [16, 17]. Однако другие исследования, в которых *S. aureus* обнаруживался в испражнениях лишь у незначительного числа пациентов с псевдомембранозным энтероколитом, опровергали стафилококковую теорию. Постепенно с конца 60-х годов, а также в связи с описанием в 1977 г. *C. difficile* в качестве основного возбудителя *антибиотикоассоциированного колита* (ААК), понятие «антибиотикоассоциированная стафилококковая диарея» фактически исчезло из медицинской литературы [18].

С середины 70-х годов акцент в медицинских публикациях стали делать на установлении связи между увеличением числа случаев диареи и ПМК и использованием определенных антибиотиков. Так, по данным разных авторов, частота клондамицин-ассоциированной диареи составляла от 7 до 21%, а диареи, связанной с применением ампициллина, – 4–17% [19, 20, 21].

В 1974 г. F.J. Tedesco и соавт., по результатам проспективного клинического исследования, выделили состояние, получившее название «клондамицин-ассоциированный колит» [22]. Из 200 пациентов, получавших клондамицин, у 42 (21%) развилась диарея, а у 20 (10%) – клиническая картина ПМК, подтвержденного при эндоскопическом исследовании.

Несмотря на относительную простоту методов выделения *S. aureus*, результаты культурального исследования клинического материала (псевдомембраны, мазки со слизистой оболочки кишечника, испражнения) оказались отрицательными. Пятью годами позже в фекалиях, сохраненных после этого исследования, и в пробе культуры тканей был обнаружен токсин *C. difficile* [22].

Первым, наиболее полным исследованием токсинов *C. difficile* стала работа S. Hafiz, опубликованная в 1974 г. [23]. Оказалось, что этот микроорганизм широко распространен в природе и выделяется из испражнений животных. Большинство изученных штаммов клостридий вырабатывали токсин, приводивший к летальному исходу.

Роль бактериальных токсинов в развитии ПМК впервые предположили Н.Е. Larson и соавт.: копрофильрат, полученный от пациентов с доказанным ПМК, обладал цитопатическим эффектом в культу-

ре клеток HeLa, клеток почек макак резус и эмбриональных фибробластов легких человека [27]. Вскоре после появления этого сообщения сразу несколько других исследовательских групп подтвердили данное наблюдение [24].

В 1977 г. J.G. Bartlett и соавт. опубликовали результаты экспериментов на животных с клондамицин-ассоциированным энтероколитом. Они установили следующие факты:

1) материал из слепой кишки сирийских хомячков с ААК содержал фильтрующийся белковый токсин, вызывавший цитопатический эффект в культуре клеток и воспроизводивший типичные поражения при его введении здоровым животным;

2) бульонная культура клостридий и ее фильтрат вызывали при введении лабораторным животным синдромосходное заболевание;

3) развивавшийся при введении фильтрата эффект мог быть нейтрализован антисывороткой, содержащей антитела к возбудителю газовой гангрены *Clostridium perfringens*.

В то же время *C. difficile* и ее цитотоксин были выделены у всех хомячков с ААК и практически у всех пациентов с ПМК [25].

Примерно в это же время G.D. Rifkin и соавт. показали, что копрофильраты, полученные от пациентов с ПМК, приводили к летальному исходу при введении их хомячкам. Они вызывали у кроликов отек, геморрагические изменения и повышение проницаемости сосудов при инокуляции в кожу. Кроме того, наблюдаемый в культуре клеток цитотоксический эффект может быть нейтрализован антитоксической сывороткой против *Clostridium sordellii* [26].

Спустя 7 мес после собственного наблюдения Н.Е. Larson и соавт. идентифицировали в образцах фекалий у 9 из 9 пациентов с ПМК и у 2 из 2 – с антибиотикоассоциированным неспецифическим колитом токсин, который нейтрализовался антитоксической сывороткой против *C. sordellii* [27]. В последующие несколько лет многие исследователи подтвердили роль *C. difficile*, выделив токсигенные штаммы возбудителя из кишечника пациентов с ПМК.

В настоящее время выяснены многие вопросы патогенеза *C. difficile*-ассоциированных болезней. Но, как часто бывает в науке, исследования поставили перед учеными еще большее количество вопросов, требующих детального изучения. Известны лишь некоторые факторы, инициирующие процесс токсинообразования. Спорным является вопрос об эндо- и экзогенном характере инфекции, путях передачи возбудителя. Не нашли однозначного объяснения факты различной восприимчивости к токсинам *C. difficile* людей разных возрастных

групп. Вместе с тем решены практические вопросы лабораторной диагностики инфекции *C. difficile*, определены показания к терапии, разработаны схемы лечения.

Этиология и эпидемиология *C. difficile*-ассоциированных болезней

Характеристика возбудителя

C. difficile – грамположительная спорообразующая облигатно анаэробная бактерия. Факторами патогенности являются экзотоксины, вызывающие цитопатогенный и энтеротоксический эффекты.

Споры *C. difficile* устойчивы к воздействию физических и химических факторов, благодаря чему возбудитель способен длительное время выживать во внешней среде. Некоторые штаммы образуют тонкую капсулу, другие – структуры, подобные фимбриям. Тем не менее их роль в качестве факторов вирулентности остается недоказанной.

Для выделения *C. difficile* используется описанная W.L. George и соавт. питательная среда, приготовленная на основе яичного желтка и содержащая в качестве селективных компонентов циклосерин и цефокситин, подавляющие рост других микроорганизмов, а также фруктозу (CCFA) [28].

Данная среда является одновременно селективной и дифференциально-диагностической и позволяет определить *C. difficile* в исследуемом материале при условии, что плотность микробной популяции составляет не менее 6×10^{10} бактерий в 1 г фекалий [29]. Как и для большинства клостридий, рост *C. difficile* на агаре сопровождается образованием характерного запаха, описываемого как запах лошадиного помета.

Частота развития нозокомиальной диареи, связанной с *C. difficile*, значительно различается в разных регионах и даже стационарах и отделениях. Ежегодно в США регистрируются от 300 тыс. до 3 млн случаев *C. difficile*-ассоциированной диареи и колита [10], на территории Англии, в том числе Уэльса, – более 16 тыс. случаев [11].

По данным J. Wistrom и соавт., полученным при анализе историй болезни 2462 пациентов в 5 стационарах Швеции, частота ААД составила 4,9% (от 1,8 до 6,9% в различных центрах). В испражнениях 55,4% пациентов был обнаружен токсин В, продуцируемый *C. difficile* [12].

Инфекция *C. difficile* официально признается нозокомиальной. Подавляющее большинство ее случаев связано с экзогенным инфицированием пациентов во время пребывания в стационаре. Распространенность нозокомиальной *C. difficile*-ассоциированной диареи в каждом стационаре значи-

тельно зависит от применения антибиотиков, особенностей циркулирующих в учреждении штаммов возбудителя и критериев, используемых для определения ААД.

Так, частота *C. difficile*-ассоциированного колита у пациентов, госпитализированных по поводу острых заболеваний, по данным различных исследований, варьирует от 1 до 10 случаев на 1000 выписанных [30, 31]. По другим данным, частота клинически манифестных случаев инфекции *C. difficile* может варьировать от 0,3 до 22,5 на 1000 выписанных пациентов [32].

Внутрибольничные случаи инфекции *C. difficile* могут иметь как спорадический, так и эпидемический характер. При возникновении вспышки *C. difficile*-ассоциированных заболеваний в стационарах или домах сестринского ухода ею могут быть охвачены от 16 до 29% от числа всех пациентов стационара [6].

Эпидемические вспышки наиболее характерны для отделений интенсивной терапии [33], хирургических [34], онкогематологических отделений [35], гериатрических центров, центров экстракорпоральной детоксикации и учреждений длительного ухода [36]. В отделениях трансплантологии частота *C. difficile*-ассоциированной диареи составляет 8,6 случаев на 1000 койко-дней [13]. По данным J. Wistrom и соавт., в неврологических и гериатрических отделениях частота ААД может составлять 6,7 и 7,1% случаев соответственно [12].

Инфекция *C. difficile* особенно широко распространена среди госпитализированных пациентов, нуждающихся в длительном уходе, и в тех лечебных учреждениях, где находится много лиц, восприимчивых к возбудителю вследствие частого использования антибиотиков, проводятся хирургические вмешательства или имеется большое количество других факторов риска, способствующих нарушению микроэкологии кишечника [37, 38].

Доказано, что не все штаммы *C. difficile* имеют одинаковое эпидемиологическое значение. Описаны многочисленные вспышки, вызванные наиболее широко распространенными штаммами. Так, в стационарах Великобритании приблизительно в 60% случаев выделяют один и тот же штамм, получивший название «*риботун*» 1 [39].

В другом исследовании установлено, что 44–65% случаев *C. difficile*-ассоциированных заболеваний в 3 стационарах Японии, расположенных в различных отдаленных регионах, было вызвано одним и тем же штаммом (риботип smz) [40].

В одном многоцентровом эпидемиологическом исследовании на основании результатов молекулярного типирования, проводившемся с помощью

рестрикционного анализа, гель-электрофореза в пульсирующем поле и *полимеразной цепной реакции* (ПЦР), было установлено, что за вспышки инфекции *C. difficile*, наблюдавшихся более 10 лет в Бельгии, Франции и Бенине, ответственны значительно отличающиеся друг от друга штаммы возбудителя, принадлежащие к одной генетически стабильной серогруппе С [41].

Однако, несмотря на существование так называемых эпидемических штаммов, высокая частота *C. difficile*-ассоциированной диареи в определенных условиях не обязательно предполагает клональный характер вспышки. Так, в исследовании, проведенном в Новой Англии, была выявлена выраженная гетерогенность циркулирующей в госпитале популяции возбудителя. От 106 госпитализированных пациентов, включая бессимптомных носителей и пациентов с клинической картиной ААД, было выделено 55 различных типов *C. difficile* [42]. Возможность циркуляции в одном лечебном учреждении нескольких штаммов возбудителя может затруднять проведение эпидемиологического анализа [43].

Штаммы *C. difficile*, постоянно продуцирующие токсины А и В, и штаммы с варибельным токсинообразованием имеют различное эпидемиологическое значение. Эпидемические штаммы, как правило, продуцируют оба токсина, чем и отличаются от штаммов, выделенных из окружающей среды вне стационара [44].

Источники и пути передачи *C. difficile*

Инфицирование *C. difficile* может осуществляться как экзогенным (передача из внешних источников), так и эндогенным путем (активация собственной микрофлоры). Однако не вызывает сомнения тот факт, что предсуществующий эндогенный резервуар *C. difficile* не является обязательным условием развития клинически манифестных форм инфекции, и в подавляющем большинстве случаев возбудитель попадает в организм из внешней среды.

Наиболее значимые экзогенные источники *C. difficile* – лица с манифестными формами инфекции и бессимптомные носители, выделяющие возбудителя в окружающую среду. Инфицирование в большинстве случаев происходит в стационаре, объекты окружающей среды которого в первую очередь, а также медицинский персонал и пациенты являются вероятными источниками инфекции. В связи с этим, как уже указывалось, инфекция *C. difficile* считается преимущественно нозокомиальной [45, 46].

Внутрибольничное инфицирование может носить как спорадический, так и эпидемический характер [47], что зависит от политики применения

антибиотиков в конкретном лечебном учреждении, особенностей и характера чувствительности циркулирующих в нем штаммов возбудителя и степени реализации программы инфекционного контроля [48]. Для некоторых стационаров и домов сестринского ухода *C. difficile* может быть эндемичным возбудителем, что подтверждается рядом исследований, описывающих повторные нозокомиальные вспышки данной инфекции, вызванные одним штаммом [49, 36].

С.Р. Clabots и соавт. установили интересный факт, заключающийся в том, что пациенты, являющиеся уже при поступлении в лечебное учреждение носителями *C. difficile*, в недавнем прошлом находились на стационарном лечении [50]. Риск колонизации *C. difficile* значительно возрастает при поступлении пациента в лечебное учреждение с регистрируемым высоким уровнем манифестных форм болезней, вызванных *C. difficile*.

Частота колонизации *C. difficile* у госпитализированных пациентов прямо пропорциональна длительности пребывания пациента в стационаре – каждая последующая неделя увеличивает риск инфицирования на 8% [50].

Очевидно, что риск инфицирования и развития *C. difficile*-ассоциированных болезней значительно возрастает при пребывании в одной палате с пациентом, имеющим ААД или ААК или являющимся носителем токсигенных штаммов возбудителя.

Очень высокий показатель обнаружения в кале *C. difficile* (или одного из ее токсинов) отмечается у здоровых детей раннего возраста, особенно у новорожденных, составляя, по данным разных авторов, от 2 до 70%. Долгое время *C. difficile* считалась «безвредным» микроорганизмом, а именно после ее описания в 1935 г. как части нормальной кишечной микрофлоры у здоровых новорожденных [51].

Согласно R. Viscidi и соавт., с наибольшей частотой *C. difficile* выделяется от здоровых новорожденных – до 30%. При этом более 90% выделенных штаммов продуцируют токсин А. С возрастом частота носительства постепенно снижается и к концу первого года жизни составляет 9%, а количество токсинообразующих штаммов снижается до 50% [52]. Несмотря на высокий уровень носительства токсигенных штаммов, клинически манифестные формы болезней, вызываемых *C. difficile*, у детей практически не встречаются.

Одним из предполагаемых механизмов столь низкой чувствительности к патогену в этом возрасте является отсутствие высокоаффинных рецепторов к токсину А [53]. Установлено также, что *секреторный иммуноглобулин А* (SIgA), содержащийся в грудном молоке, способен связывать ток-

син А, вырабатываемый *C. difficile* [54], а также ингибировать его взаимодействие со специфическими рецепторами кишечного эпителия [55].

Вместе с тем появились данные, свидетельствующие о том, что наряду с другими микроорганизмами *C. difficile* может служить причиной синдрома внезапной смерти новорожденных, возникающего в результате абсорбции токсинов в кишечнике, приводящей к развитию инфекционно-токсического шока [56].

У здоровых взрослых частота бессимптомного носительства *C. difficile* составляет, как правило, менее 3%, но может достигать 8% [57, 58]. Высеваемость заметно возрастает у «асимптомных» госпитализированных пациентов, достигая 20%. Еще больше она увеличивается у получающих антибиотики лиц без диареи, достигая в некоторых лечебных учреждениях 63% [36]. Несмотря на высокую частоту бессимптомного носительства *C. difficile* у здоровых взрослых, в испражнениях у них крайне редко обнаруживаются высокие уровни токсинов А и/или В [59].

Однозначно оценить значение бессимптомного носительства с точки зрения риска развития манифестной инфекции *C. difficile* нельзя. Так, J.K. Shim и соавт. утверждают, что носительство токсигенных и нетоксигенных штаммов этого микроорганизма снижает риск развития *C. difficile*-ассоциированных болезней, составляющий 4,5% у «неколонизированных» пациентов, до 1,1% у лиц, являющихся бессимптомными носителями [60].

Важное значение в процессе внутрибольничного инфицирования имеет фактор передачи инфекции через руки медицинского персонала [61]. Во многих исследованиях отмечено достоверное снижение числа случаев заболеваний, вызванных *C. difficile*, при использовании «контактной» изоляции (резиновые перчатки) [62]. Контактный путь передачи инфекции через руки медицинского персонала является, вероятно, одним из наиболее значимых механизмов распространения внутрибольничной инфекции *C. difficile* [32].

По данным различных исследователей, возбудитель может высеиваться с рук у 20–59% медицинского персонала, осуществляющего уход за пациентами, инфицированными *C. difficile* и соответственно выделяющими микроорганизм в окружающую среду [61, 63].

Споры *C. difficile* также могут обнаруживаться на различных объектах больничной среды [63, 64]. Наибольшая степень обсемененности отмечается непосредственно у постели пациентов с манифестными формами инфекции *C. difficile*. По данным одного исследования, спорами *C. difficile* было кон-

таминировано 49% палат, в которых находились пациенты с диареей, и 29% палат с больными, не имевшими клинических признаков инфекции [61].

К.-Н. Kim и соавт. провели бактериологическое исследование на *C. difficile* 114 проб, взятых с различных объектов стационара, в котором неоднократно регистрировались случаи *C. difficile*-ассоциированных диарей [65]. Возбудитель был выделен из 37 (32%) образцов. Контаминированными оказались преимущественно туалеты, подкладные судна, пол, спинки кроватей и руки медицинского персонала. В то же время в другом подобном исследовании микроорганизм был обнаружен всего в 6 (1,3%) из 445 исследованных проб материала, взятого в стационаре, благополучном по инфекции *C. difficile* [66].

И все-таки роль объектов внешней среды как источника внутрибольничного инфицирования остается неясной: одни исследователи приходят к выводу о значимости этого источника [61], другие получают отрицательные результаты.

C. difficile часто обнаруживается в различных источниках окружающей среды, вне условий лечебного учреждения: в почве, плавательных бассейнах, естественных водоемах (морях, реках), водопроводной воде. Однако роль данного фактора остается неясной. Высказывались предположения, что резервуаром *C. difficile* являются домашние животные, но выяснилось, что штаммы *C. difficile*, носителями которой были домашние животные, отличны от тех, что вызывают инфекцию у людей [67].

C. difficile может играть определенную роль в патогенезе колитов у амбулаторных пациентов, получающих антибактериальную терапию [68]. Однако клинически манифестные формы внебольничной инфекции *C. difficile* встречаются редко и составляют менее 1 случая на 10 тыс. амбулаторных пациентов, получающих антибиотики [69], что в очередной раз доказывает нозокомиальный характер инфекции.

Факторы риска

Фактором риска колонизации *C. difficile* является собственно госпитализация в лечебное учреждение (табл. 1). L.V. McFarland и соавт. при обследовании 399 пациентов у 7% (29) выявили носительство *C. difficile* уже при поступлении. За период пребывания в стационаре частота колонизации у этих пациентов составила 20,8% (83), у 52 (62,7%) из них носительство было бессимптомным, тогда как у 31 (36,3%) развилась диарея [61]. Результаты кластерного анализа подтвердили факт передачи штаммов *C. difficile* от пациента к пациенту. К моменту выписки 82% инфицированных пациентов продолжали быть носителями *C. difficile*.

Таблица 1. Факторы риска развития инфекции *C. difficile*

Доказанные	Требующие дальнейшего изучения ¹
<i>Факторы риска, связанные с пациентом</i>	
Применение антибиотиков (клиндамицин, цефалоспорины, пенициллины)	Пожилый возраст, женский пол, наличие сопутствующей патологии
<i>Факторы риска, связанные с пребыванием в стационаре</i>	
Госпитализация в медицинское учреждение, пребывание в одной палате с пациентом, имеющим манифестную форму инфекции <i>C. difficile</i>	Оперативные вмешательства, инвазивные диагностические и лечебные процедуры

¹ Роль факторов этой группы выявлена либо в небольших по объему исследованиях, либо является логически обоснованной. У пациентов, принимающих антибактериальные препараты, их значение значительно возрастает [12].

Общепризнанный фактор риска развития *C. difficile*-ассоциированных болезней – применение антибиотиков. Фактически антибактериальная терапия играет роль триггера (пускового звена патогенеза), нарушающего микроэко систему и аминокислотный состав кишечной среды и создающего тем самым необходимые условия для *C. difficile*.

Как известно, все антимикробные препараты могут обуславливать развитие инфекции *C. difficile*, однако наиболее часто она связана с предшествующим применением клиндамицина, аминопенициллинов и цефалоспоринов [4, 70]. В частности, установлено, что терапия цефалоспорины III поколения предрасполагает к развитию *C. difficile*-ассоциированных болезней гораздо чаще, чем пеницилинами узкого спектра активности (бензилпенициллин, феноксиметилпенициллин) и ингибиторозащищенными пенициллинами. Напротив, для некоторых препаратов подобная связь практически отсутствует.

Так, при ретроспективном анализе 61 000 историй болезни пациентов, получавших курс терапии тикарциллином/клавуланатом, не зарегистрировано ни одного случая *C. difficile*-ассоциированного заболевания [71].

Наибольшую опасность развития инфекции *C. difficile* представляют антимикробные препараты, активные в отношении анаэробов и вызывающие наиболее значимые нарушения состава микрофлоры кишечника.

Индуктировать развитие инфекции *C. difficile* могут и некоторые противоопухолевые препараты, обладающие умеренной антимикробной активностью. К ним, в частности, относятся противоопухолевые антибиотики (доксорубин), препараты платины (цисплатин), антиметаболиты (5-фторурацил, метотрексат), циклофосфамид [72, 73]. Более того, возникновению *C. difficile*-ассоциированных болезней может способствовать лекарственный препарат

любой группы, способный нарушать микробиотоз кишечника.

Помимо госпитализации и предшествующей антибактериальной терапии в ходе изучения инфекции *C. difficile* выявлены и другие факторы макроорганизма и окружающей среды, предрасполагающие к развитию болезней, обусловленных *C. difficile*. Установлено, что *пожилый возраст*, число и степень тяжести *сопутствующих болезней* у госпитализированных пациентов существенно повышают риск инфицирования *C. difficile*.

Так, по данным различных исследователей, к группе высокого риска относятся пациенты с тяжелыми ожогами [74], уреимией [75], гемобластомами [76], а также больные, которым проводились операции на органах брюшной полости [77].

Многофакторный регрессионный анализ более 500 тыс. историй болезни в 172 стационарах США с 1993 по 1998 г. позволил выявить достоверную корреляционную связь *C. difficile*-ассоциированного колита с ВИЧ-инфекцией, кандидозом, злокачественными новообразованиями и химиотерапией, дефицитом питания, аспирационной пневмонией, кишечной непроходимостью, дивертикулезом, почечной недостаточностью, инфекциями мочевыводящих путей, длительной гиподинамией и остеомиелитом [78].

Оперативные вмешательства на органах грудной клетки, биопсия костного мозга, катетеризация артерий и вен, мочевого пузыря, гемодиализ, наложение гастростомы, по данным этого исследования, также часто приводят к развитию *C. difficile*-ассоциированного колита [78].

J. Wistrom и соавт. считают, что на частоту возникновения ААД существенно не влияют катетеризация сосудов, эндоскопические исследования, операции на органах брюшной полости или одно из таких сопутствующих заболеваний, как диабет, злокачественное новообразование, хроническая патология почек, воспалительные заболевания кишечника. В то же время эти исследователи отмечают,

что риск развития *C. difficile*-ассоциированных болезней резко возрастает при наличии 2 и более указанных сопутствующих заболеваний, а также при продолжительности антибактериальной терапии более 3 сут [12].

В другом сравнительном исследовании, оценивавшем влияние факторов риска у бессимптомных носителей *C. difficile* и лиц с манифестными формами инфекции, продемонстрировано, что пациенты, имевшие более 3 острых проблем, связанных со здоровьем, 3 сопутствующих заболеваний или получавшие антимикробные препараты более 20 дней, имеют более высокий риск развития клинически манифестных форм – диареи и колита [79].

Собственно ВИЧ-инфекция не предрасполагает к колонизации *C. difficile*. По данным L.R. Mody и соавт., у 75,5% ВИЧ-инфицированных пациентов развившаяся *C. difficile*-ассоциированная диарея заканчивается летальным исходом [80]. Однако высокая частота и тяжесть течения болезней, связанных с *C. difficile*, у ВИЧ-инфицированных обусловлена не повышенной восприимчивостью этой категории пациентов к возбудителю, а интенсивной антимикробной химиотерапией, проводимой в связи с резким дефицитом иммунитета, и, следовательно, снижением противоинфекционной защиты организма. Наиболее частая причина диареи у этих пациентов – применение цефалоспоринов III поколения.

На основании результатов многофакторного анализа A. Selva O'Callaghan и соавт. выявили основные факторы риска развития *C. difficile*-ассоциированной диареи у пациентов пожилого возраста. К наиболее важным из них относятся, в частности, интубация дыхательных путей и продолжительная антибактериальная терапия [81].

К другим дополнительным факторам, повышающим вероятность развития *C. difficile*-ассоциированной диареи, относятся: применение препаратов, снижающих секрецию неорганических ионов в кишечнике и угнетающих его перистальтику (противодиарейные препараты), их ректальное введение, использование слабительных средств и средств, размягчающих каловые массы [82, 83].

Патогенез *C. difficile*-ассоциированных болезней

Ключевыми звеньями патогенеза *C. difficile*-ассоциированной диареи и колита являются:

1) нарушение микроэкосистемы кишечника в результате использования антибиотиков или противоопухолевых и других препаратов, обладающих антимикробной активностью;

2) колонизация кишечника токсигенными штаммами *C. difficile*;

3) продукция возбудителем токсинов А и/или В;

4) повреждение слизистой оболочки кишечника и развитие воспалительного процесса.

Клинически манифестные формы *C. difficile* инфекции реализуются только при наличии всех основных патогенетических факторов. Для развития болезни недостаточно только колонизации кишечника *C. difficile*, равно как и нарушение нормального состава кишечной микрофлоры не приведет к развитию ПМК без участия токсигенных штаммов *C. difficile*.

Патогенез развития *C. difficile*-ассоциированных болезней представлен на рисунке.

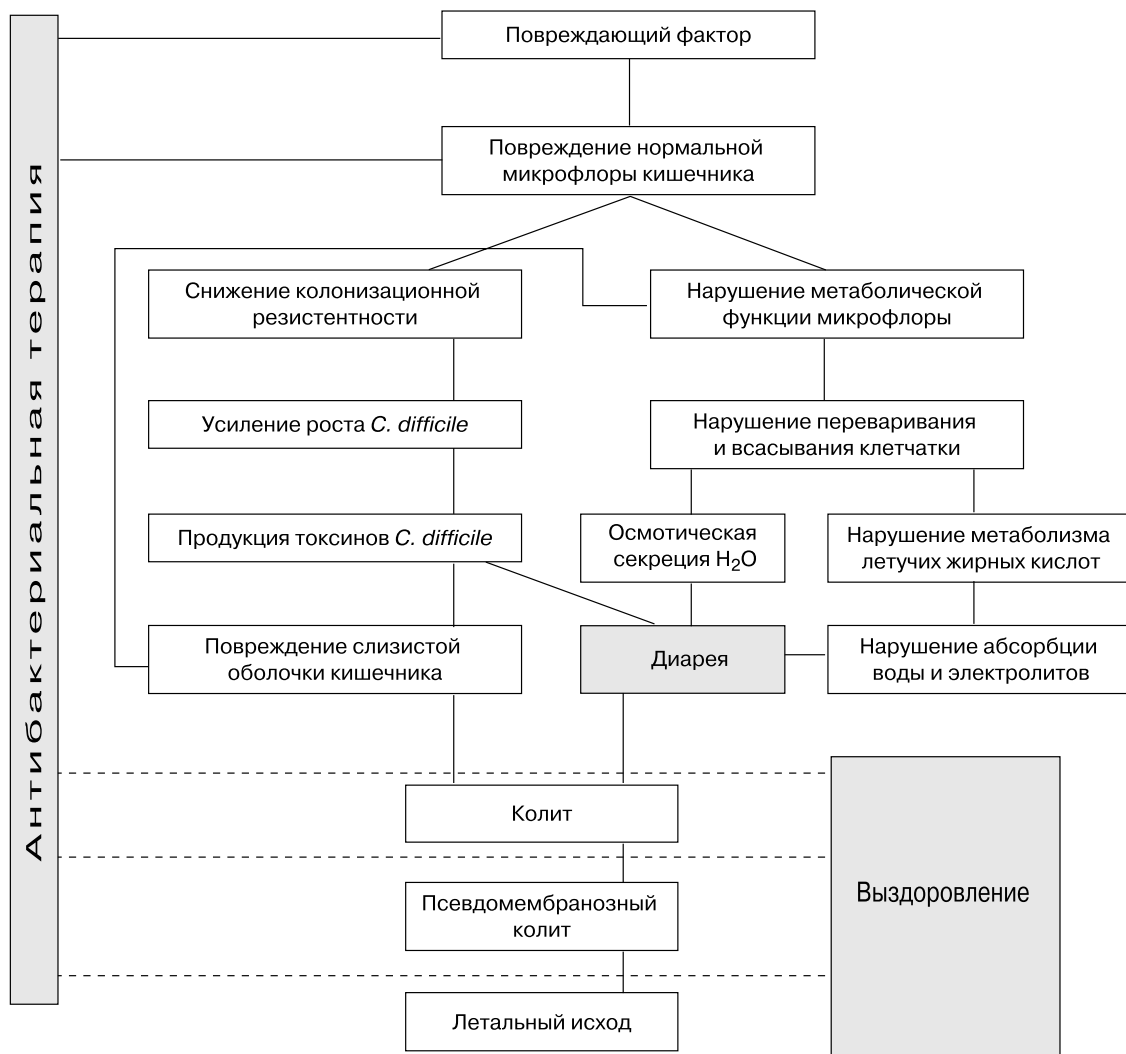
В результате воздействия повреждающего фактора изменяется состав микрофлоры кишечника. Повреждающим фактором чаще всего бывают антибиотики. Наряду с их действием изменения кишечной микрофлоры могут быть обусловлены применением противоопухолевых химиопрепаратов, лучевой терапией, оперативными вмешательствами на органах желудочно-кишечного тракта, болезнями или травмами, приводящими к нарушению кровоснабжения и ишемии внутренних органов.

Необходимо отметить, что риск развития инфекции *C. difficile* не связан с *in vitro* чувствительностью возбудителя к причинному антибиотику.

Эндогенная микрофлора кишечника здорового человека представляет собой сложную и еще недостаточно изученную систему защиты макроорганизма. В многочисленных экспериментах на животных показано, что нормальная кишечная микрофлора способна эффективно подавлять рост *C. difficile* – явление, получившее название *колонизационной резистентности*. Изменение микробной популяции кишечника под действием антибиотиков приводит к снижению колонизационной резистентности, изменению содержания аминокислот и нарушению метаболизма углеводов и желчных кислот, осуществляемого резидентными анаэробами.

Нарушение колонизационной резистентности, в свою очередь, значительно повышает чувствительность кишечника к различным микроорганизмам, устойчивым к действию повреждающего фактора, к которым относится, в частности, *C. difficile*. Колонизация кишечника данным возбудителем или активация эндогенного резервуара *C. difficile* на этом фоне запускает цепь процессов, приводящих при сочетании определенных факторов к развитию клинически манифестных форм инфекции.

В создавшихся благоприятных условиях на фоне сниженной колонизационной резистентности начинается прогрессирующее размножение возбудителя. У пациентов с клинически манифестными формами болезни плотность колонизации кишечника *C. diffi-*



Патогенез инфекции *C. difficile*

cile составляет, как правило, более 10^8 КОЕ/мл. Вегетативные формы возбудителя размножаются непосредственно в просвете толстой кишки.

После достижения микроорганизмом поздней логарифмической и ранней стабильной фаз размножения в толстой кишке начинаются продукция и выделение *C. difficile* экзотоксинов, приводящих в конечном итоге к диарее и колиту. Большинство штаммов продуцирует оба токсина (А и В). Однако заболевание может вызываться и штаммами, образующими только один токсин.

Воздействие токсинов *C. difficile* на слизистую оболочку толстой кишки замыкает «порочный

круг», сформировавшийся под влиянием фактора, нарушающего микроэкосистему кишечника. Повреждение колоноцитов, секреция жидкости в просвет кишечника и развитие местной воспалительной реакции приводят к развитию осмотической диареи, нарушению трофики кишечного эпителия и усугублению изменений состава микробиоценоза.

Помимо непосредственного цитотоксического действия токсинов *C. difficile* на слизистую оболочку кишечника в развитии диареи важное значение имеет и нарушение метаболизма ряда естественных субстратов, связанное с уменьшением количества

нормальной кишечной микрофлоры в результате действия антибиотиков.

Известно, что многие углеводы, поступающие с пищей, не способны абсорбироваться в толстой кишке. Анаэробы нормальной кишечной микрофлоры, используя углеводы в качестве источника энергии, расщепляют их до молочной кислоты и короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК), абсорбция которых сопровождается всасыванием воды и электролитов. Уменьшение количества анаэробов под действием антибиотиков приводит к нарушению метаболизма углеводов. В результате нарушения всасывания углеводов развивается осмотическая диарея, обусловленная накоплением в просвете кишечника катионов, связанных с являющимися анионами органическими кислотами и углеводами. Это, в свою очередь, снижает метаболическую активность кишечной микрофлоры.

Снижение метаболизма углеводов анаэробами приводит также к нарушению функции слизистой оболочки кишечника. В дистальных отделах толстой кишки N-масляная кислота, подвергаясь внутриклеточному окислению, является основным энергетическим субстратом для клеток слизистой оболочки.

Таким образом, уменьшение продукции КЦЖК лишает ее источника энергии, что подтверждается развитием «резекционного колита» у пациентов с выключенными из процесса пассажа каловых масс (в результате хирургического лечения) дистальными отделами толстой кишки.

Уменьшение в результате использования антибиотиков количества анаэробов, входящих в состав нормальной микрофлоры толстой кишки, приводит к нарушению процесса 7α -дегидроксилирования желчных кислот (холевая, хенодезоксихолевая), являющихся мощными стимуляторами кишечной секреции. Увеличение их концентрации в толстой кишке также приводит к развитию секреторной диареи. Более того, под их действием споры *C. difficile* прорастают в вегетативные формы.

Факторы патогенности *C. difficile*

Описаны и детально изучены 3 основных фактора патогенности *C. difficile*.

Токсигенные штаммы *C. difficile* продуцируют 2 крупномолекулярных белковых экзотоксина: токсин А (энтеротоксин) и токсин В (цитотоксин). Третим, наименее изученным фактором патогенности, является белок, угнетающий перистальтику кишечника.

Токсины А и В являются одними из самых крупных бактериальных экзотоксинов [84]. Оба токсина имеют на С-конце белковой молекулы сходную по

составу последовательность аминокислот, чем в известной степени объясняется сходство их биологического действия.

И токсин А, и токсин В обладают цитотоксическими свойствами и проявляют цитопатический эффект в культуре более 20 видов клеток и тканей человека. В экспериментах *in vitro* токсин В обладает в 10 раз более высокой (в молярном эквиваленте) цитотоксической активностью в отношении колоноцитов человека, чем токсин А. Оба токсина после проникновения в цитоплазму клеток посредством УДФ-глюкозозависимого моногликозилирования инактивируют ряд сигнальных белков, обеспечивающих трансдукцию внутриклеточных сигналов (Rho, Rac, Cdc42). Это, в свою очередь, нарушает функцию фермента актинполимеразы [85, 86].

Угнетение активности актинполимеразы приводит к дезагрегации актиновых микрофиламентов цитоскелета эпителиоцитов кишечника, их деформации и в конечном итоге к гибели. В экспериментах установлено, что токсин А обладает выраженным повреждающим действием на межклеточные соединения эпителиальных клеток в монослое. При этом проницаемость монослоя энтероцитов для декстрана возрастает при действии токсина А гораздо сильнее, чем при действии токсина В [87].

Вероятный механизм нарушения межклеточных соединений и увеличения проницаемости монослоя эпителия под влиянием токсинов А и В связан с разрушением апикального и основного F-актина эпителиоцитов. Деструкция F-актина сопровождается диссоциацией белков адгезии – окклюдина, ZO-1 и ZO-2, расположенных в области плотных межклеточных контактов на боковой мембране клеток [88].

В эксперименте на культуре клеток оба токсина способствуют адгезии других микроорганизмов (*Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*) к монослою энтероцитов. Токсин А в большей степени, чем токсин В, увеличивает проницаемость монослоя энтероцитов для указанных бактерий, что значительно облегчает микробную транслокацию [89].

Описан еще один токсический фактор белковой природы, продуцируемый некоторыми штаммами *C. difficile* и обладающий АДФ-рибозилтрансферазной активностью [90].

Кроме токсинов, *C. difficile* вырабатывает ряд гидролитических ферментов: хондроитин-4-сульфатазу, гиалуронидазу, гепариназу, коллагеназу и протеазы, роль которых в патогенезе *C. difficile*-ассоциированных болезней требует уточнения [91].

Гены *tcdA* и *tcdB*, кодирующие синтез соответственно токсина А и В, продуцируемых *C. difficile*,

расположены в локусе патогенности PaLoc. В указанном локусе имеются еще 3 гена – *tcdD*, *tcdE* и *tcdC*. Экспериментальные исследования подтвердили гипотезу о том, что именно локус патогенности PaLoc определяет способность к токсинообразованию у отдельных штаммов *C. difficile*. Нетоксигенные штаммы возбудителя не имеют такого локуса и, следовательно, не могут вызвать развития манифестных форм болезней у человека и животных [92].

Данные о структуре генома *C. difficile* свидетельствуют о наличии гена *txeR*, который локализуется несколько выше группы генов, кодирующих синтез токсинов. Субстанция TxeR, кодируемая геном *txeR*, необходима для экспрессии *tox*-генов *in vivo* и активации транскрипции *tox*-генов *in vitro*. Субстанция TxeR функционирует как альтернативный *sigma*-фактор для фермента РНК-полимеразы [93].

Под влиянием определенных факторов, действующих на бактериальную клетку извне (например, уменьшение концентрации в окружающей среде питательных субстратов), усиливается синтез субстанции TxeR, которая активирует транскрипцию генов *toxA* и *toxB* за счет активации *tox*-промотора. Синтез даже малого количества субстанции TxeR катализирует ее дальнейшее лавинообразное накопление. Напротив, увеличение содержания в окружающей микроорганизм среде глюкозы или других питательных субстратов вызывает ингибирующий эффект на синтез субстанции TxeR. Вполне вероятно, что и активность *tox*-промоторов находится под непосредственным регулирующим влиянием определенных факторов внешней среды.

Большинство штаммов *C. difficile* вырабатывает оба токсина или ни одного, хотя имеются сообщения о существовании штаммов *C. difficile*, продуцирующих только один токсин (А или В) [85, 94].

Рядом исследователей поддерживается концепция о том, что в процессе развития опосредованного токсинами воспалительного ответа решающую роль играют сложные взаимодействия между нейтроиммунными клетками собственной пластинки слизистой оболочки и клетками кишечного эпителия [95].

Токсин А

Токсин А представляет собой белок с молекулярной массой 308 кД, обладающий в 50–400 раз более выраженным летальным эффектом, чем токсин В. В то же время он имеет в 1000 раз меньшую, чем у токсина В, цитотоксическую активность [96].

В экспериментах на интактных животных моделях токсин А повышает миоэлектрическую активность колоноцитов, повреждает слизистую оболочку кишечника и вызывает развитие в ней

воспалительного процесса, усиливает секрецию жидкости.

Различают прямой и опосредованный повреждающие эффекты токсина А на эпителий кишечника. В экспериментах на лигированной кишечной петле крысы через 1 ч после введения токсина в ее просвете начинает накапливаться жидкость, которая спустя 2 ч становится вязкой, а через 4 ч приобретает геморрагический характер. Максимальный секреторный эффект развивается спустя 6 ч от момента воздействия токсина.

Параллельно с усилением секреции жидкости наблюдаются деэпителизация ворсинок и значительное увеличение проницаемости сосудов, в результате чего возрастает осмотическое давление в просвете кишечника. Повреждение тканей кишечника в лигированной петле быстро прогрессирует и через 6 ч приводит к развитию некроза слизистой оболочки [97]. В результате действия токсина А повреждаются только ворсинки, крипты остаются интактными.

Эпителиальные клетки кишечника опосредованно разрушаются за счет миграции в очаг воспаления большого количества фагоцитов, «привлеченных» гибелью нейтрофилов в результате цитотоксического действия токсинов [98]. Высвобождаемые фагоцитирующими клетками лизосомальные ферменты, как и ферменты, выделяющиеся при разрушении эпителиоцитов, усиливают повреждение клеток.

Как уже указывалось, токсин А усиливает секрецию жидкости в просвет кишечника. По своему характеру она отличается от той, которая секретруется под влиянием энтеротоксинов, продуцируемых другими патогенами, например холерного энтеротоксина. Она имеет большую вязкость и геморрагический характер [84]. Связано это с тем, что жидкость накапливается не за счет нарушения функции ионных насосов, а в связи с разрушением эпителиальных клеток, приводящим к нарушению не только водно-электролитного обмена клеток, но и к проницаемости эпителиального слоя в целом. Поэтому предполагается, что именно токсин А является причиной диареи в начальный период болезни.

Ключевыми медиаторами, опосредующими воспалительный и секреторный эффекты токсина А, являются метаболиты арахидоновой кислоты (простагландины, лейкотриены, фактор активации тромбоцитов) [99], субстанция Р [100], продуцируемые моноцитами *интерлейкины* (ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8) и *фактор некроза опухоли* (ФНО) [101, 102].

Нейтрофилы, обнаруживаемые в большом количестве в псевдомембранах при ПМК и подлежащей слизистой оболочке кишечника, играют централь-

ную роль в патогенезе *C. difficile*-ассоциированных болезней. Посредством протеина G токсин А *in vitro* активизирует гранулоциты человека, что реализуется путем кратковременного увеличения концентрации несвязанного кальция в цитоплазме клеток и приводит к активации их хемотаксиса и хемокинеза. На модели инфекции *C. difficile* у кроликов моноклональные антитела к поверхностным рецепторам CD11b/18 нейтрофилов ингибируют как инфильтрацию ими слизистой оболочки кишечника, так и секреторный эффект токсина А.

На С-конце белковой молекулы токсина А имеется участок, состоящий из повторяющихся аминокислотных последовательностей. Этот участок отвечает за связывание со специфическими гликопептидными рецепторами, содержащими галактозу- β -1,4-N-ацетилглюкозамин. У человека эта структура имеется в составе гликопептидных антигенов I, X и Y (система Льюиса), расположенных на поверхности клеток кишечного эпителия. Это и обеспечивает прикрепление к ним токсина А *C. difficile*.

В большом количестве антиген X также представлен на поверхности нейтрофилов. В связи с этим активация хемотаксиса как результат действия токсина А может быть обусловлена связыванием токсина с гликопептидными антигенами на поверхности лейкоцитов. После прикрепления к клетке токсин проникает в нее посредством эндоцитоза подобно дифтерийному и коклюшному токсинам.

С целью изучения роли отдельных субпопуляций нейронов в развитии повреждения слизистой оболочки кишечника был проведен опыт на денервированной петле подвздошной кишки крысы. Введение токсина А *C. difficile* в денервированную петлю подвздошной кишки сопровождалось снижением секреции на 75% ($p < 0,001$), миелопероксидазной активности нейтрофилов – на 92% ($p < 0,01$) и уменьшением гистологического повреждения – на 96% ($p < 0,001$) по сравнению с таковыми в интактных петлях.

Таким образом, внешняя хирургическая денервация способствует защите подвздошной кишки от действия токсина А, продуцируемого *C. difficile*, и препятствует развитию энтерита. В связи с этим высказано предположение, что в формировании повреждения подвздошной кишки играют роль сенсорные нейроны кишечной стенки [103].

Токсин В

Токсин В является белком с молекулярной массой 269–279 кД, обладающим мощным цитотоксическим действием. В культуре клеток он вызывает в 100–1000 раз больший цитотоксический эффект, чем токсин А [96]. Вероятно, более высокая токсич-

ность токсина В связана в значительной степени с более низкой плотностью рецепторов к токсину А на поверхности клеток, чем с более высокой токсичностью самого токсина В.

Токсин В, введенный в эксперименте в кишку хомяков, в отсутствие токсина А не вызывает никакого эффекта на интактную слизистую оболочку. Напротив, в присутствии субтоксических концентраций токсина А или при повреждениях слизистой оболочки токсин В может привести к гибели животного [104]. Эти данные свидетельствуют о том, что эпителиальные клетки кишечника не содержат специфических рецепторов к токсину В. Он может токсически действовать только в том случае, если токсин А или другие факторы приведут к повреждению эпителия, достаточному для проникновения токсина В в глубину слизистой оболочки. Более того, до настоящего времени не идентифицированы специфические рецепторы к токсину В у человека [59].

Установлено, что эффект токсина В на клетку зависит от его концентрации и определенного значения внеклеточного рН. На фоне низкого рН в эндосомах происходит трансформация токсина В *C. difficile*, которая облегчает встраивание его молекулы в мембрану клетки-мишени и образование в ней ионных каналов [105].

В экспериментах на крысах токсин В подобно токсину А стимулирует хемотаксис и миграцию нейтрофилов в очаг воспаления. Медиаторами, участвующими в реализации этого эффекта, являются продуцируемый макрофагами ФНО- α и метаболиты липооксигеназного пути превращения арахидиновой кислоты.

Супернатант макрофагов, обработанный токсином В, не влияет на транспорт ионов в слизистой оболочке тонкой кишки, что наблюдается, однако, при действии токсина А. Это связано с тем, что в отличие от токсина А токсин В не стимулирует синтез ИЛ-1 β , который в опытах на кроликах активизирует транспорт электролитов в подвздошной кишке [106].

Итак, в целом энтеротоксичность *C. difficile* реализуется двумя путями.

Прямой эффект заключается в непосредственном действии токсинов на энтероциты и нервный аппарат кишечной стенки.

Непрямой эффект обеспечивается за счет активации макрофагов, тучных клеток и других клеток крови и увеличения продукции нейропептидов и провоспалительных цитокинов [107].

Адгезины

Обсуждение факторов патогенности *C. difficile* было бы неполным, если оставить без внимания доказанную способность возбудителя к адгезии.

Исследование факторов адгезии в перспективе позволит ответить на вопрос о механизмах персистенции микроорганизма в кишечнике.

В 1988 г. S.P. Borriello и соавт. высказали предположение о том, что именно адгезия играет основную роль на начальном этапе развития инфекции [108].

С. Hennequin и соавт. в 2001 г. опубликовали результаты экспериментального исследования, свидетельствующего об участии одного из белков теплового шока (GroEL) в адгезии *C. difficile* к клеткам в культуре тканей. Полученная антисыворотка к этому белку блокировала контакт эпителиальных клеток с возбудителем, что подтверждает вероятную роль GroEL в качестве адгезина [109].

Первым идентифицированным адгезином, продуцируемым *C. difficile*, стал поверхностный мембранный белок Cwp66 (66 кД), кодируемый геном *cwp66* [110]. Несколько позже был обнаружен ген *slpA*, кодирующий *S-layer precursor protein* у некоторых вирулентных штаммов *C. difficile* (C253 и 79-685). Этот белок имеет на С-конце молекулы последовательность аминокислот, сходную с таковой у адгезина Cwp66 [111].

В геноме *C. difficile* также имеется ген *fliD*, кодирующий *flagellar cap protein*, который, как предполагается, выполняет специфические функции, обеспечивая прикрепление возбудителя к рецепторам эпителиоцитов слизистой оболочки [112].

Клиника инфекции *C. difficile*

В настоящее время выделяют следующие основные клинические формы инфекции *C. difficile*:

- 1) ААД – от самоограничивающихся легких форм до тяжелой холероподобной диареи;
- 2) ААК различной степени тяжести вплоть до фульминантных, а иногда фатальных форм, в отдельных случаях – с рецидивирующим течением;
- 3) ПМК.

Предполагается также, что *C. difficile* может участвовать в патогенезе так называемых неспецифических воспалительных заболеваний кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит), непроходимости и стеноза толстой кишки, синдрома внезапной смерти у детей [56].

Единого мнения о роли бессимптомного носительства *C. difficile* в развитии патологии человека пока нет. Однако обнаружение бессимптомного носительства у госпитализированного пациента не является клинически значимым и не влияет на лечебную тактику [113].

Наиболее часто *C. difficile* вызывает легкую или средней степени тяжести диарею, проходящую после прекращения действия триггерного фактора (антибиотика). Она начинается остро, как правило,

через 5–10 дней после начала применения антимикробного препарата. Однако диарея может манифестировать как с первых дней назначения антибактериальной терапии, так и спустя 10 нед и более после ее прекращения.

Начальным и самым типичным симптомом болезни является диарея, определяемая как увеличение частоты стула до 3 и более раз в сутки, сопровождающееся изменением консистенции (разжижением) испражнений. Диарея протекает относительно легко, без дегидратации. Все симптомы разрешаются в течение нескольких дней после отмены «причинного» антибиотика. Специфическая терапия в подавляющем большинстве случаев не требуется. Такой вариант течения болезни классифицируют как ААД.

В ряде случаев к диарее присоединяются симптомы общей интоксикации: слабость, вялость, тошнота, снижение аппетита, колит. Наблюдаются такие симптомы, как лихорадка (30–50%), боли в животе или кишечная колика (20–33%) и лейкоцитоз (50–60%). В тех случаях, когда наряду с диареей появляются признаки интоксикации и колита, принято говорить об ААК.

При более тяжелом течении инфекции *C. difficile* могут развиваться симптомы скрытого кишечного кровотечения, дегидратация, электролитные нарушения (гипокалиемия), гипоальбуминемия с развитием отеков вплоть до анасарки. Лихорадка может достигать 40°C, частота стула – до 15–30 раз в сутки (90–95%), лейкоцитоз – до 15×10^9 /л, иногда достигая уровня лейкомоидной реакции ($\geq 50 \times 10^9$ /л) [6].

Обнаружение при эндоскопическом исследовании толстой кишки (проктосигмоидоскопии) характерных морфологических изменений (псевдомембран) свидетельствует о развитии наиболее тяжелого варианта течения инфекции *C. difficile* – ПМК. Летальность при ПМК может достигать 10–35% [5].

В некоторых случаях *C. difficile*-ассоциированный колит может протекать без диареи в виде синдрома «острого живота», имитируя перитонит, или токсического мегаколона. Токсический мегаколон проявляется остро развивающейся дилатацией толстой кишки (более 6 см в диаметре) на фоне общей интоксикации организма, отсутствия механической обструкции и характеризуется высокой летальностью.

К другим осложнениям *C. difficile*-ассоциированного колита относятся перфорация толстой кишки, инвагинация поперечной ободочной кишки, экссудативная энтеропатия.

При ранней отмене антибактериальной терапии и отсутствии осложнений разрешение симптомов

наблюдается обычно в течение 1 нед. Однако продолжение приема «причинного» антибиотика или развитие колита уже после завершения полного курса антибактериальной терапии может приводить к длительной диарее, сопровождающейся тяжелыми электролитными нарушениями, гипопротеинемией и высокой летальностью.

Внекишечные проявления инфекции встречаются редко и представлены реактивным артритом [114], тендосиновитом и абсцессами различной локализации [115].

Реактивный артрит как осложнение инфекции *C. difficile* связан с наличием HLA B27 антигена, не всегда сопровождается лихорадкой. Приблизительно в 50% случаев в процесс вовлекаются коленные и лучезапястные суставы. Болезнь манифестирует в среднем через 11–12 дней после начала диареи и протекает длительно (до 2 мес).

В 2001 г. T. Sakurai и соавт. описали случай формирования кисты и абсцесса печени, вызванного *C. difficile* [116]. Местные поражения кожи и инфекции костей на фоне *C. difficile*-ассоциированных болезней в большинстве случаев связаны с травмой и попаданием спор возбудителя из окружающей среды или с кожи самого пациента в ткани с последующим развитием манифестной инфекции.

Серьезную проблему представляет рецидивирующее течение инфекции *C. difficile*, регистрируемое у 20% пациентов. Рецидив инфекции протекает, как правило, стереотипно: после завершения курса специфической терапии наступает улучшение или полное исчезновение клинических симптомов диареи или колита, а через 2–28 дней (обычно через 3–7 дней) вновь появляются сходные симптомы болезни.

При лабораторном обследовании этих пациентов после завершения курса специфического лечения первого эпизода диареи, даже при отсутствии клинических проявлений, оказывается положительным тест на наличие в фекалиях токсина *C. difficile*. При культуральном исследовании может быть выделен такой же или другой токсигенный штамм возбудителя [117]. В то же время необходимо помнить, что пациенты с рецидивирующим течением болезни могут повторно инфицироваться тем же или другим штаммом из экзогенного источника.

После перенесенной инфекции *C. difficile* развивается системный иммунный ответ, связанный с выработкой IgG-антител, преимущественно к токсину A [10]. При изучении уровней иммуноглобулинов в сыворотке крови больных с различным течением инфекции выявлены определенные закономерности характера иммунного ответа. У пациентов с единственным эпизодом *C. difficile*-ассоциированной диа-

реи была обнаружена более высокая концентрация IgM ($p=0,004$) и IgG ($p=0,009$) в сыворотке крови, чем у больных с рецидивами болезни [118].

Диагностика инфекции *C. difficile*

Диагностика *C. difficile*-ассоциированных болезней основана на комплексной оценке анамнестических, клинических, лабораторных и эндоскопических данных. Необходимо отметить, что ведущую роль в установлении и подтверждении диагноза инфекции *C. difficile* играют специфические лабораторные методы исследования по обнаружению самого возбудителя и его токсинов. Используемые на практике некоторые общеклинические и инструментальные методы исследования имеют ограниченное значение в диагностике этой инфекции и могут служить лишь в качестве дополнительных ориентировочных методов.

Анамнестически *C. difficile*-ассоциированное заболевание должно быть заподозрено у пациентов с диареей, получавших антибиотики в предшествующие 2 мес, а также у пациентов с диареей, развившейся спустя 72 ч после госпитализации.

Для подтверждения диагноза во многих случаях достаточно однократного исследования кала с определением в нем токсинов *C. difficile* или токсигенных штаммов возбудителя. В то же время в некоторых случаях требуются повторное микробиологическое исследование и/или эндоскопия. Однако трехкратное исследование позволяет повысить чувствительность методов и достоверность результатов менее чем на 10% [119].

Общеклинические методы исследования

Общеклинические методы исследования крови и кала позволяют уточнить степень тяжести болезни и в некоторой степени облегчить установление предварительного диагноза инфекции *C. difficile*. Типичными изменениями в крови является лейкоцитоз, свидетельствующий о бактериальном воспалении. Он появляется уже на ранних стадиях и при *C. difficile*-ассоциированных болезнях имеет достоверно более высокий уровень, чем при других острых инфекционных диареях, составляя в среднем $15,8 \times 10^9$ /л против $7,7 \times 10^9$ /л ($p < 0,01$).

При *C. difficile*-ассоциированных болезнях возможны три варианта увеличения количества лейкоцитов в периферической крови [120]:

- 1) «внезапный» лейкоцитоз, совпадающий с началом заболевания;
- 2) лейкоцитоз, предшествующий появлению клинических симптомов;
- 3) нарастание лейкоцитоза как маркер уже развившейся инфекции.

Для обнаружения лейкоцитов обычно используется окраска образцов испражнений метиленовым синим. В 2001 г. K.J. Savola и соавт. провели сравнительный анализ чувствительности и специфичности этого теста, использовавшегося в стационаре и в амбулаторных условиях. На основании результатов 797 копрологических и 473 культуральных исследований, а также исследования 502 образцов фекалий на наличие одного из токсинов *C. difficile* было установлено, что обнаружение нейтрофилов в кале методом микроскопии может быть рекомендовано для применения только у амбулаторных пациентов [121]. Недостатками этого метода являются необходимость использования свежего клинического материала и наличие опытного специалиста для интерпретации результатов.

Другой простой тест, позволяющий установить воспалительный характер диареи, – обнаружение в кале маркера нейтрофилов – лактоферрина. Согласно данным исследований, чувствительность этого теста составляет 75–90%. В то же время он обладает крайне низкой специфичностью – 46%. Более того, одним из его недостатков является высокая стоимость исследования. По сравнению с методом определения лактоферрина тест на определение лейкоцитов в испражнениях обладает более высокой специфичностью (92%). Однако он менее чувствительный (28–40%).

Рентгенологическая и ультразвуковая диагностика

Рентгенологические признаки, выявляемые при *C. difficile*-ассоциированной диарее и колите, как правило, неспецифичны. На обзорной рентгенограмме органов брюшной полости у некоторых пациентов с колитом может обнаруживаться отечная толстая кишка с участками утолщения кишечной стенки и нарушенной гаустрацией.

При контрастном исследовании (ирригографии) при ПМК могут обнаруживаться округлые «дефекты наполнения», соответствующие расположению псевдомембран. Однако в большинстве случаев диагностически значимых изменений обнаружить не удастся. Это связано с выраженными секреторными изменениями в толстой кишке, плохим распределением контрастного вещества или минимальной активностью воспалительного процесса.

Лучшие результаты дает исследование с двойным контрастированием, однако его проведение сопряжено с высоким риском перфорации толстой кишки. У части пациентов с клинически манифестными формами доказанной инфекции *C. difficile* (30–35%) выявляются рентгенологические призна-

ки тонко- или толстокишечной непроходимости и перитифлита [122].

При компьютерной томографии (КТ) могут быть выявлены характерные изменения, ограничивающиеся локализацией в толстой кишке. К ним относятся утолщение стенки толстой кишки (особенно слизистой оболочки) до 10–15 мм и наличие асцитической жидкости. Изменения могут быть локальными или распространяться на всю толстую кишку (панколит). В то же время, по данным исследований, какие-либо клинически значимые изменения при КТ выявляются всего у 50% пациентов с положительными результатами теста на определение в кале токсина *C. difficile* [123].

КТ органов брюшной полости как метод подтверждения диагноза *C. difficile*-ассоциированных болезней имеет чувствительность 52%, специфичность – 93% [124].

При ультразвуковом исследовании кишечника при ПМК также могут выявляться утолщение кишечной стенки, асцит и сужение просвета кишки. Процесс может носить тотальный характер, но чаще ограничен левыми отделами толстой кишки.

Как указывалось, инструментальные методы исследования не могут служить основанием для постановки диагноза и требуют проведения специфических лабораторных тестов, а в некоторых случаях – и эндоскопического исследования.

Эндоскопическое исследование

Наиболее доступным и относительно несложным методом диагностики, позволяющим оценить характер и степень выраженности морфологических изменений в кишечнике, является эндоскопическое исследование. В большинстве случаев в патологический процесс вовлекаются дистальные отделы толстой кишки. В связи с этим, как правило, достаточно проведения ректосигмоидоскопии.

Однако приблизительно у $1/3$ пациентов процесс распространяется на правые отделы толстой кишки, что требует выполнения колоноскопии. Обнаруживаемые при эндоскопии патоморфологические изменения зависят от степени тяжести и стадии инфекционного процесса и варьируют от умеренной гиперемии и отечности слизистой оболочки до мегаколона с формированием псевдомембран.

Непосредственная визуализация изменений, локализующихся в кишечнике, позволяет подтвердить диагноз ПМК. В типичном случае эндоскопическая картина при ПМК представлена очаговыми изменениями в виде небольших (от 2 до 10 мм в диаметре) бело-желтых возвышающихся бляшек (псевдомембран), располагающихся на нормальной или гиперемированной слизистой оболочке толстой

кишки, имеющих тенденцию к слиянию при прогрессировании процесса.

Псевдомембраны при патогистологическом исследовании состоят из эпителиального детрита, фибрина, слизи и нейтрофильных лейкоцитов.

Специфичность данного метода при ПМК достигает 100%. В случаях, когда *C. difficile*-ассоциированный колит не сопровождается формированием псевдомембран, эндоскопические изменения не являются специфическими. В то же время биопсия слизистой оболочки толстой кишки позволяет выявить морфологические изменения, типичные для ПМК. В этом случае чувствительность эндоскопического метода исследования не превышает 50%, поскольку псевдомембраны обнаруживаются не у каждого больного с *C. difficile*-ассоциированным колитом [125].

Необходимость эндоскопического исследования при инфекции *C. difficile* остается спорным вопросом. Это связано не только с относительно высокой стоимостью самого исследования, плохой переносимостью процедуры пациентами и невысокой чувствительностью, но и возможностью развития опасных осложнений, в первую очередь перфорации кишечника. Так, Американская коллегия по разработке рекомендаций в гастроэнтерологии рекомендует использовать эндоскопическое исследование только в строго определенных ситуациях:

- при необходимости быстрого установления диагноза и невозможности проведения быстрых специфических лабораторных тестов или при использовании тестов, обладающих низкой чувствительностью;
- при непроходимости кишечника и невозможности получения образцов кала для исследования;
- при подозрении на другие заболевания толстой кишки, для диагностики которых требуется эндоскопическое исследование.

Лабораторная диагностика

Существует множество принципиально различных лабораторных методов диагностики инфекции *C. difficile*. Основными из них являются тесты по определению токсинов непосредственно в образцах кала. Только в США рынок коммерческих тест-систем составляет более 10 млн долларов в год.

Сравнительная характеристика различных методов специфической диагностики инфекции *C. difficile* представлена в табл. 2.

Материал для исследования и правила его транспортировки

Материалом для лабораторного исследования с целью установления диагноза инфекции *C. difficile*

являются образцы свежего кала. Минимальное количество материала составляет 5 мл, или 5 г, рекомендуемое – 10–20 мл водянистых испражнений.

Для снижения вероятности получения положительных результатов культурального исследования у госпитализированных пациентов, являющихся бессимптомными носителями, необходимо проводить данное исследование только при диарее. Результаты исследования образцов оформленного кала не могут использоваться для подтверждения диагноза *C. difficile*-ассоциированных болезней. Исключение составляют лишь эпидемиологические исследования по установлению распространенности носительства *C. difficile* в популяции.

Использование мазков, взятых из кишечника, не является адекватным для исследования в культуре клеток вследствие небольшого количества материала. Данный способ получения материала может быть оправдан только в случаях, когда имеется клиническая картина кишечной непроходимости, а в качестве ее причины предполагается *C. difficile*.

Материалом для исследования может быть содержимое просвета или биоптаты слизистой оболочки толстой кишки, полученные при эндоскопическом исследовании, во время операции или на аутопсии. В то же время разведение материала, взятого из просвета кишки или при обработке биоптатов, может уменьшить количество жизнеспособных микроорганизмов в образцах, что не позволит выделить чистую культуру возбудителя.

Полученные образцы должны транспортироваться в герметичных пластиковых или стеклянных контейнерах. Оптимальным является культуральное исследование в течение 2 ч с момента получения материала. При невозможности его быстрого выполнения образцы могут быть помещены в специальные транспортные среды для анаэробов или в рефрижератор. Однако последнее резко снижает количество жизнеспособных вегетативных форм возбудителя, в то же время споры *C. difficile* могут сохранять жизнеспособность нескольких дней.

Допустимое условие, позволяющее сохранить адекватное количество возбудителя, – хранение образцов кала до 2 сут при температуре 5°C. Образцы, используемые для обнаружения токсина в культуре клеток, могут храниться до 3 сут при температуре 5°C. При более позднем исследовании они должны быть заморожены при температуре минус 70°C. В то же время замораживание уже до минус 20°C значительно снижает цитотоксическую активность [126].

Образцы для проведения реакции латекс-агглютинации замораживаться не должны.

Таблица 2. Сравнительная характеристика различных методов лабораторной диагностики инфекции *C. difficile*

Метод исследования	Цель исследования	Время, необходимое для исследования, ч	Чувствительность, %	Специфичность, %	Комментарии
Исследование на культуре тканей, цитопатогенный тест (ЦПТ)	Токсин В	28–48	67–100	85–100	Высокая чувствительность. Возможно полуколичественное определение путем титрования проб. Хорошая чувствительность. Рекомендуется использовать в сочетании с бактериологическим исследованием [128]
Реакция нейтрализации токсина (на культуре фибробластов)	Токсин В	28–48	–	–	Хорошие чувствительность и специфичность. Используется в сочетании с ЦПТ
Латекс-агглютинация	Глутамат-дегидрогеназа	0,5	58–92	80–96	Невысокие чувствительность и специфичность. Используется только для экспресс-диагностики [113, 128]
Иммуноферментный анализ	Токсин А или токсины А и В одновременно	2–4	63–99	75–100	Хорошие специфичность и чувствительность. Может потребоваться 2–3-кратное повторение исследования [130, 135]
Дот-иммуноблотинг	Токсин А	0,5	–	–	–
Полимеразная цепная реакция	Ген, кодирующий токсин В, ген, кодирующий токсин А, или оба гена	2–4	–	–	Хорошая чувствительность, высокая специфичность [144, 145]
Культуральный метод	Микроорганизм и его токсигенность <i>in vitro</i>	24–72	89–100	84–99	Хорошая чувствительность, низкая специфичность в связи с высокой частотой носительства у госпитализированных пациентов, особенно получающих антибиотики [128, 130, 133]

Исследование в культуре клеток и реакция нейтрализации токсина

Определение цитопатического эффекта в культуре клеток (цитопатогенный тест) исторически было первым методом диагностики *C. difficile*-ассоциированных болезней. В сущности выявление цитотоксичности фильтрата копрокультуры при ААК и привело к открытию этиологической роли *C. difficile* в их патогенезе.

С учетом того, что заболевание у человека вызывают только токсигенные штаммы возбудителя, определение токсинов, продуцируемых *C. difficile*, непосредственно в образцах кала является наиболее широко используемым методом подтверждения диагноза *C. difficile*-ассоциированных диареи и колита. Практически все штаммы *C. difficile* продуцируют либо оба токсина (А и В), либо являются нетоксигенными, что позволяет использовать *цитопатогенный* тест в качестве достоверного диагностического

метода вне зависимости от того, какой токсин играет определяющую роль в патогенезе болезни [94, 127].

Одновременно с выявлением цитопатического эффекта в культуре клеток при проведении цитопатогенного теста ставят *реакцию нейтрализации* токсина специфическим антитоксином, что значительно повышает специфичность данного метода исследования.

Для проведения цитопатогенного теста и реакции нейтрализации цитотоксина *C. difficile* широко используются коммерческие тест-системы. В наборы входят микропланшеты с культурой клеток определенной линии (чаще всего фибробласты человека), специфический антитоксин, буфер и другие реактивы, необходимые для реакции нейтрализации.

В классическом варианте цитопатогенный тест и реакция нейтрализации цитотоксина проводятся следующим образом: после получения бесклеточного супернатанта фекалий его смешивают с буфером, добавляют к культуре клеток и инкубируют.

Одновременно инкубируют в культуре клеток с добавлением антитоксина, представляющего специфические токсиннейтрализующие антитела.

Цитотоксический эффект оценивают через 4, 24 и 48 ч. Чаще всего положительный результат наблюдается через 24 ч. Результат исследования считается положительным, если цитопатический эффект, проявляющийся в виде изменения формы клеток, регистрируется в лунках с супернатантом фекалий и отсутствует в лунках, содержащих специфический антитоксин.

При проведении цитопатогенного теста возможно определение количества токсина в пробе методом титрования. Однако не установлено достоверной прямой корреляции между концентрацией токсина в исследуемом клиническом материале и тяжестью течения болезни.

Цитопатогенный тест в сочетании с реакцией нейтрализации токсина в культуре клеток, будучи использован в соответствующей клинической ситуации, обладает очень высокой специфичностью, поскольку специфический антитоксин нейтрализует цитотоксический эффект, опосредованный любым из двух токсинов, продуцируемых *C. difficile*.

Чувствительность данного метода также высокая и составляет, по разным данным, от 67 до 100% [128]. Однако большинство исследователей считает, что по чувствительности он уступает некоторым другим методам диагностики, в частности культуральному исследованию [113]. Так, по данным различных авторов, цитопатогенный тест и реакция нейтрализации токсина в культуре клеток дают отрицательные результаты у 15–38% пациентов с подтвержденными *C. difficile*-ассоциированными диареей и колитом [129]. У некоторых пациентов отмечалось прогрессирование процесса с развитием ПМК и летальным исходом.

Чувствительность данного метода может варьировать в зависимости от способа центрифугирования клинического материала, используемой клеточной линии, субъективности оценки микробиологом цитопатического эффекта, а также из-за возможной инактивации токсина В в процессе хранения и подготовки образцов [37].

К недостаткам метода относятся высокая стоимость, необходимость специального оборудования для поддержания культуры тканей, длительность исследования (до 2 сут) и отсутствие стандартизации.

В связи с указанными недостатками Общество эпидемиологических ассоциаций рекомендует использовать этот метод в сочетании с бактериологическим исследованием [113, 130] в целях достижения оптимальной диагностической чувствительности (за счет культурального метода) и специфич-

ности (за счет цитопатогенного теста и реакции нейтрализации токсина в культуре клеток) [32].

Перед этим исследованием следует тщательно отобрать пациентов, у которых использование метода будет иметь диагностическую ценность. Согласно клиническому прогностическому правилу, проверенному на определенном количестве больных, у госпитализированных пациентов, не получавших antimicrobные препараты в предшествующие 30 дней и не имевших клинически значимой диареи (определение см. выше) или болевого абдоминального синдрома, с высокой степенью вероятности результаты цитопатогенного теста на *C. difficile* будут отрицательными.

О клиническом преимуществе использования этого правила свидетельствует его высокая специфичность: у 94–97% соответствующих ему пациентов в образцах кала не обнаруживается цитотоксин, что позволяет избежать у них исследования цитопатического эффекта в культуре клеток.

Так, D.A. Katz и соавт. установили, что с учетом использования этого правила данный метод исследования у 29–39% пациентов является нецелесообразным и приводит к дополнительным экономическим затратам [131].

Более того, тесты на выявление *C. difficile* и ее токсинов не должны использоваться в следующих ситуациях:

- у пациентов с оформленным калом (исключение составляют случаи кишечной непроходимости, возможно, связанной с *C. difficile*);
- у детей в возрасте до 1 года; высокий процент ложноположительных результатов в данной группе связан с отсутствием корреляции между частотой клинических форм заболеваний (низкая) и частотой обнаружения токсина в кале (высокая);
- для контроля эффективности лечения, так как у определенной части пациентов еще длительное время после полного клинического выздоровления в кале обнаруживается токсин *C. difficile*.

Культуральное исследование

Бактериологический (культуральный) метод исследования остается незаменимым как для клинической диагностики инфекции *C. difficile*, так и для эпидемиологических исследований. Во многих лабораториях он является самым надежным и наиболее широко используемым методом диагностики *C. difficile*-ассоциированных болезней, обладающим высокой чувствительностью [113, 132].

Как указывалось, для выделения возбудителя используется селективная среда ССФА, содержащая цефокситин, циклосерин и фруктозу. Для культурального исследования образцы кала непо-

средственно инокулируются на среду ССФА. Затем инкубируются в анаэробных условиях при температуре 35–37°C в течение 18–24 ч.

При росте на среде ССФА *C. difficile* образует бело-желтые колонии диаметром 2–4 мм, плоские, округлой или неправильной формы, с неровным или ризоидным краем, матовые, не образующие зоны гемолиза. Рост *C. difficile* сопровождается появлением характерного запаха, подобного запаху *p*-крезола или лошадиного помета.

Использование для выделения возбудителя других питательных сред, например агара с цикloserином и маннитолом, кровяного агара с цикloserином и маннитолом, не имеет существенных преимуществ перед средой ССФА [133].

Предварительная идентификация *C. difficile* может быть сделана на основании характерной морфологии колоний, результатов микроскопии окрашенных по Граму препаратов, в которых обнаруживаются грамположительные палочки, и специфического запаха. Окончательная идентификация возбудителя основана на выявлении методом газожидкостной хроматографии уникальных продуктов метаболизма КЦЖК и определении специфических биохимических свойств, характерных для данного возбудителя.

Однако необходимо отметить, что только выделение и идентификация *C. difficile* (без последующего определения продукции токсинов всеми выделенными штаммами) обладает низкой специфичностью и приводит к гипердиагностике *C. difficile*-ассоциированных болезней, особенно в случаях, когда имеется высокая распространенность бессимптомного носительства нетоксигенных штаммов возбудителя. Объясняется это тем, что нетоксигенные штаммы *C. difficile* не играют роли в патологии человека и крайне редко вызывают развитие клинических форм болезни.

Таким образом, культуральный метод (выделение и идентификация *C. difficile*) без определения токсигенности не может использоваться в качестве самостоятельного метода диагностики болезней, обусловленных этим возбудителем.

В связи с этим все выделенные штаммы *C. difficile* должны дополнительно тестироваться на токсинообразование *in vitro*. Для этого отбирают 4–6 типичных колоний, которые культивируют в сердечно-мозговом бульоне в анаэробных условиях при температуре 35–37°C в течение 24 ч. В последующем фильтраты суточной бульонной культуры тестируют на наличие токсина *C. difficile*, в частности, путем исследования цитотоксического эффекта.

В исследованиях продемонстрировано, что $\frac{2}{3}$ штаммов *C. difficile*, которые в культуре клеток не

проявляли цитопатического эффекта, продуцировали токсин *in vitro*. Титр выделенного токсина оказался несколько ниже, чем у штаммов, обладавших цитопатическим эффектом в культуре клеток. Этим, вероятно, и объясняется несоответствие между клиническими и лабораторными данными. Несмотря на длительность исследования (2–3 сут), культуральный метод с последующим тестированием выделенных штаммов на токсигенность является надежным методом диагностики *C. difficile*-ассоциированных болезней, обладающим более высокой чувствительностью и равнозначной специфичностью по сравнению с таковыми цитопатогенного теста [129, 132, 134].

В то же время большинство лабораторий, в том числе и в нашей стране, не имеют оборудования для проведения дифференциальной диагностики между токсигенными и нетоксигенными (и соответственно непатогенными) штаммами *C. difficile* или используют алгоритмы диагностики, ориентированные только на выделение и идентификацию культуры возбудителя. Это, в свою очередь, приводит к большому количеству ложноположительных результатов с учетом того, что в некоторых стационарах до 20–25% штаммов *C. difficile* являются нетоксигенными.

Одновременное проведение цитопатогенного теста или использование методов определения продукции токсина *in vitro* позволяет разрешить эту проблему, однако требуют дополнительных экономических затрат.

Латекс-агглютинация

Первым наиболее доступным коммерческим тестом, альтернативным культуральному исследованию, был метод *латекс-агглютинации*. При его создании предполагалось, что он позволит определять токсин А *C. difficile*, присутствующий в кале, за счет связывания со специфическими антителами, фиксированными на частицах латекса. Метод имел низкую стоимость, был прост в использовании, а результаты исследования можно было оценить уже через 30 мин.

Однако через некоторое время после начала широкого применения метода латекс-агглютинации было отмечено, что положительную реакцию дают как токсигенные, так и нетоксигенные штаммы *C. difficile*. Кроме того, некоторые другие микроорганизмы давали положительную реакцию. Оказалось, что антиген, распознаваемый в этом тесте, является глутаматдегидрогеназой – ферментом, не играющим определенной роли в развитии болезни и продуцируемый некоторыми другими микроорганизмами.

Глутаматдегидрогеназа *C. difficile* – часть белкового комплекса, связанного с токсином А. Несмотря на тщательную очистку токсина А, необходимого для получения антител, используемых в тест-системе, материал содержал небольшое количество глутаматдегидрогеназы, обладающей высокой иммуногенностью. В результате в реакции агглютинации антитела связывались преимущественно с ней. Несмотря на то что глутаматдегидрогеназа входит в состав антигенов многих бактерий, эпитоп, определяемый данным методом, оказался все-таки относительно специфичным для *C. difficile*.

По данным сравнительных исследований, у пациентов с манифестными формами инфекции *C. difficile* чувствительность метода латекс-агглютинации колеблется от 58 до 68%, а специфичность – от 94 до 96% [128].

Преимуществами данного теста являются быстрота получения результатов, низкая стоимость и простота использования. Однако существенные недостатки, такие, как невозможность дифференциации между токсигенными и нетоксигенными штаммами *C. difficile*, позволяют использовать данный метод только в скрининговых исследованиях [135]. Кроме того, существуют более чувствительные и специфичные тесты быстрой диагностики, основанные на определении глутаматдегидрогеназы с помощью антител, например *иммуноферментный анализ* (ИФА).

Иммуноферментный анализ

Определение токсинов *C. difficile* в образцах кала с помощью ИФА получило в последнее время широкое распространение. В сравнительных исследованиях изучены характеристики как минимум 8 коммерческих тест-систем. Все они несколько различаются по чувствительности и специфичности, однако в целом обладают высокой достоверностью результатов [135].

К преимуществам метода ИФА относятся: простота использования, высокая скорость получения результатов (2–3 ч) и специфичность, относительно невысокая стоимость, отсутствие необходимости работы с культурами клеток. По данным сравнительных исследований, у пациентов с клинической картиной *C. difficile*-ассоциированной диареи и колита, подтвержденных положительными результатами культурального исследования и теста на определение токсина в культуре клеток, чувствительность метода ИФА составляет 63–94%, специфичность – 75–100% [32].

В целом метод, как и отдельные коммерческие тест-системы, обладает более низкой по сравнению с цитотоксическим тестом чувствительностью.

Тем не менее имеющиеся преимущества позволяют рассматривать ИФА как приемлемую альтернативу. В некоторых лабораториях для подтверждения диагноза *C. difficile*-ассоциированных болезней используют комбинацию этих двух методов. Так, Y.C. Manabe и соавт. установили, что использование цитотоксического теста в качестве дополнения к ИФА повышает чувствительность при исследовании первого образца испражнений с 72 до 81% [136].

Различные модификации данного метода позволяют определить в кале либо токсин А, либо одновременно токсины А и В [137, 138]. Однако предпочтительным является использование тест-систем, позволяющих обнаружить оба токсина *C. difficile*. Связано это с тем, что некоторые штаммы возбудителя (в частности, относящиеся к серогруппе F) продуцируют только токсин В [94, 139].

В настоящее время обнаружены также штаммы *C. difficile*, вызывающие развитие заболевания у человека и продуцирующие токсин А, не обнаруживаемый при иммунологических исследованиях. В экспериментах установлено, что эти штаммы имеют мутацию гена *tcdA* в 139-й позиции [140].

В последнее время в качестве скрининг-метода определения *C. difficile* в испражнениях при *C. difficile*-ассоциированной диарее разработана тест-система на основе ИФА, позволяющая определить глутаматдегидрогеназу. Результаты теста можно оценить уже через 15–20 мин. У пациентов с диагнозом *C. difficile*-ассоциированной диареи, подтвержденным цитопатическим тестом или комбинацией его с ИФА, использующим специфические антитела к токсинам, чувствительность и специфичность этого скрининг-теста составляет 84–92 и 96–100% соответственно [129, 141].

Дот-иммуноблотинг и полимеразная цепная реакция

ПЦР – относительно новый и перспективный метод диагностики болезней, вызванных *C. difficile* [142, 143]. Описано успешное применение ПЦР для выявления токсигенных штаммов *C. difficile* [144, 145, 146]. Для этого используется метод амплификации специфических участков генома возбудителя, кодирующих токсин А и/или В.

N. Kato и соавт. разработали методику, позволяющую амплифицировать специфический для *C. difficile* участок гена, кодирующего токсин А, не дающий перекрестной реакции с участками ДНК токсигенных штаммов *C. sordellii* [144].

S.J. Kuhl и соавт. разработали двухступенчатый протокол ПЦР, в котором используются праймеры к участку 16S рибосомальной РНК *C. difficile*

и участку гена, кодирующего токсин В [147]. Положительный результат ПЦР наблюдался у 4 из 12 пациентов, имевших отрицательные результаты цитотоксического теста.

Диагностическая значимость ПЦР и *dot-иммуноблотинга* остается неясной. Однако, по-видимому, со временем эти методы широко распространятся в практике клинических диагностических лабораторий. Это станет возможным тогда, когда их стоимость станет сопоставимой со стоимостью цитотоксического теста и ИФА.

Пока ни один из лабораторных тестов не может быть использован в качестве самостоятельного метода диагностики *C. difficile*-ассоциированных болезней. Оптимальным является использование комбинации двух лабораторных тестов, позволяющих достичь максимально высокой чувствительности и специфичности исследования [32, 113, 148].

Для экспресс-диагностики и при скрининговых исследованиях применяют один из тестов на определение токсина в образцах кала (ИФА или латекс-агглютинация).

Во всех случаях результаты лабораторных исследований должны тщательно сопоставляться с анамнезом, клинической картиной болезни и данными дополнительных методов обследования пациента.

Лечение

Общие положения

Пациенты с клиническими формами инфекции *C. difficile* (диареей, колитом, ПМК) подлежат контактной изоляции с проведением текущей и заключительной дезинфекции. Такой подход диктуется возможностью распространения инфекции от человека к человеку и необходимостью предотвращения контаминации возбудителем объектов окружающей среды.

Первичные лечебные мероприятия при *C. difficile*-ассоциированных заболеваниях заключаются в отмене по возможности «причинного» антибиотика и восстановлении водно-электролитного баланса организма путем проведения оральной регидратации.

Следует избегать назначения препаратов, угнетающих перистальтику кишечника, например лоперамида и дифеноксила гидрохлорида. Так, некоторыми авторами продемонстрирована связь между использованием дифеноксилата, лоперамида и других средств, угнетающих моторику кишечника, с развитием токсического мегаколона у пациентов с *C. difficile*-ассоциированным колитом и ПМК.

Эти препараты, способствуя стазу кишечного содержимого, теоретически увеличивают риск прогрессирования повреждения слизистой оболочки кишечника и усиления воспалительного процесса в связи с увеличением времени контакта слизистой оболочки с токсинами возбудителя. Более того, развитие стаза кишечного содержимого может усиливать размножение *C. difficile*.

Этиотропная терапия

Приблизительно у $1/4$ пациентов с *C. difficile*-ассоциированными болезнями диарея исчезает самостоятельно после отмены антибактериальной терапии. Однако у большинства пациентов требуется назначение специфической антибактериальной терапии [149, 150]. Критериями ее назначения являются динамика клинической симптоматики после отмены «причинного» антибиотика и степень тяжести болезни. Специфическая антибактериальная терапия показана также всем пациентам, у которых не представляется возможным прекратить прием антибиотика или заменить его другим, в меньшей степени способствующим развитию *C. difficile*-ассоциированных болезней.

При выборе антибиотика учитывают два основных фактора: чувствительность возбудителя и возможность достижения максимальной концентрации препарата в кишечнике, в связи с чем предпочтение отдается пероральным лекарственным формам.

Препаратами выбора являются метронидазол или ванкомицин, которые назначают внутрь [4, 37, 149]. Своевременное назначение метронидазола или ванкомицина внутрь при *C. difficile*-ассоциированной диарее обычно позволяет предотвратить развитие ПМК [84].

Ванкомицин

Ванкомицин стал первым препаратом, продемонстрировавшим высокую активность в отношении *C. difficile*. В связи с этим все последующие подходы к терапии этой инфекции сравнивают с ним по эффективности как с «золотым» стандартом [37]. Многочисленные рандомизированные сравнительные клинические исследования, проведенные в последние 20 лет, подтверждают высокую клиническую эффективность ванкомицина при лечении *C. difficile*-ассоциированной диареи и колита.

Большинство штаммов *C. difficile* имеет *минимальную подавляющую концентрацию* (МПК) ванкомицина, равную 1 мг/л. Фактически все штаммы подавляются при концентрации 16 мг/л, что на несколько порядков ниже концентраций, достигае-

мых в просвете кишечника при приеме ванкомицина внутрь (2000–5000 мг/л) [151, 152, 153]. Такие высокие концентрации в просвете кишечника объясняются крайне низкой всасываемостью препарата в желудочно-кишечном тракте. Более того, в отличие от метронидазола высокий уровень ванкомицина в кишечнике поддерживается на протяжении всего курса терапии.

Для лечения пациентов с клинически манифестными формами инфекции *C. difficile* ванкомицин традиционно назначают внутрь в дозе 500 мг 4 раза в сутки в течение 10 дней. Однако в недавно проведенных исследованиях была продемонстрирована сходная клиническая эффективность традиционного режима терапии ванкомицином и альтернативной схемы лечения: внутрь в дозе 125 мг 4 раза в сутки в течение 7 дней [37]. Однако эффективность последнего режима требует проведения большего количества клинических исследований.

Клиническая эффективность различных режимов терапии ванкомицином, по данным сравнительных исследований, колеблется от 86 до 100%, частота рецидивов после курса лечения – от 15 до 33% [154]. Согласно результатам ретроспективного анализа исходов болезни у пациентов, получавших ванкомицин внутрь (в дозе от 0,5 до 2,0 г/сут в течение 10–14 дней), неудовлетворительные результаты лечения наблюдались всего в 3% случаев [155].

В целом клиническая эффективность (оценивалась как быстрое улучшение состояния и исчезновение симптомов без изменения режима терапии) составила 87%, а частота рецидивов после курса лечения – 24% [155].

Эффект при назначении ванкомицина обычно отмечается уже на 1–2-е сутки и проявляется уменьшением лихорадки, частоты дефекаций (до 4–5 раз в сутки), улучшением общего самочувствия [37, 149]. Диарея разрешается обычно в течение 2–4 сут, хотя у некоторых пациентов наблюдается более медленный ответ на терапию. Эффективность лечения ванкомицином можно оценивать не ранее чем с 7-х суток лечения [150, 153].

Эффективность ванкомицина в дозе 125 мг 4 раза в сутки существенно возрастает при увеличении продолжительности терапии до 10 дней по сравнению с таковой при 5- и 7-дневных курсах лечения [153].

Показаниями к применению ванкомицина являются: случаи *C. difficile*-ассоциированной диареи, резистентные к терапии адекватными дозами метронидазола, тяжелое течение болезни, в том числе ПМК, рецидивы инфекции [156]. Строгие ограничения для использования ванкомицина связаны с потенциально высоким риском селекции резистентности к нему у энтерококков [4, 37, 150].

По данным Д.М. Насек и соавт., частота обнаружения ванкомицинорезистентных энтерококков в испражнениях пациентов, обследованных на наличие *C. difficile*, составляет 14%, в то время как в общей популяции их распространенность составляет 11% [157]. В то же время, несмотря на высокий риск селекции ванкомицинорезистентных энтерококков, ванкомицин остается препаратом для лечения тяжелых и угрожающих жизни форм *C. difficile*-ассоциированных болезней.

До последнего времени высокая стоимость ванкомицина являлась фактором, ограничивающим его широкое применение. На отечественном фармацевтическом рынке уже появились более дешевые генерики.

Метронидазол

Несмотря на то что метронидазол и ванкомицин обладают одинаковой клинической эффективностью при лечении *C. difficile*-ассоциированных болезней, в большинстве случаев метронидазол является препаратом выбора. Это связано с более низкой его стоимостью [117] и отсутствием риска формирования резистентности к ванкомицину у энтерококков.

Подавляющее большинство штаммов *C. difficile* высокочувствительно к метронидазолу и имеет МПК₉₀ метронидазола в пределах от 0,25 до 1,0 мг/л в зависимости от региона [158, 159].

Основная цель терапии – создание максимальной концентрации антибиотика в просвете кишечника. Именно с этим связаны теоретические возражения против применения метронидазола, так как препарат почти полностью всасывается в тонкой кишке. В результате у здоровых лиц, а также у бессимптомных носителей *C. difficile* в просвете толстой кишки метронидазол обнаруживается в минимальных концентрациях [160–163]. В то же время оказалось, что у пациентов с *C. difficile*-ассоциированной диареей бактерицидные концентрации в кишечнике легко достигаются при приеме препарата внутрь.

Так, в одном исследовании 9 пациентов с диареей, вызванной *C. difficile*, имели бактерицидные концентрации метронидазола (в среднем $9,3 \pm 7,5$ мг/л водянистых испражнений) и его метаболита (гидроксиметронидазола) в кишечнике, сохранявшиеся на протяжении всего курса терапии [164]. Концентрация метронидазола и гидроксиметронидазола снижалась по мере разрешения диареи и становилась неопределяемой после клинического выздоровления. Это, возможно, связано с тем, что в острый период инфекции препарат интенсивно секретируется через воспаленную стенку кишки

и по мере стихания воспалительного процесса закономерно снижается его выделение в кишечник.

Вероятно также, что сокращение времени пассажа препарата через кишечник в результате повышенной перистальтической активности снижает его абсорбцию и соответственно повышает уровень в кишечном содержимом [165]. Этот феномен рассматривается в качестве объяснения развития рецидивов, наблюдаемых при лечении метронидазолом.

Имеются сообщения о том, что препарат может достигать бактерицидных концентраций в просвете кишечника и при внутривенном введении [164, 166], однако этиотропная терапия в большинстве случаев должна проводиться пероральными его формами.

Метронидазол для лечения клинически манифестных форм инфекции *C. difficile* применяется внутрь в дозе 250 мг 4 раза в сутки или 500 мг 3 раза в сутки в течение 7 дней.

Клиническая эффективность метронидазола при лечении диарей, вызванных *C. difficile*, составляет 94–95%, частота рецидивов колеблется от 5 до 16% [150, 167]. В самом крупном исследовании, в которое были включены 632 пациента с *C. difficile*-ассоциированной диареей, метронидазол продемонстрировал высокую эффективность при пероральном применении. Частота нежелательных лекарственных реакций, неудовлетворительных исходов лечения и рецидивов составила 1, 2 и 7% соответственно [117].

Другие антимикробные препараты

В последние годы широко изучалась эффективность различных антимикробных агентов и других препаратов, связывающих токсин, при лечении первого эпизода *C. difficile*-ассоциированного заболевания.

Бацитрацин в связи с относительно низкой эффективностью по сравнению с таковой пероральных форм *ванкомицина* и *метронидазола*, высокой стоимостью и низкими вкусовыми качествами используется для лечения *C. difficile*-ассоциированных диарей и колита в очень редких случаях, когда не могут быть использованы метронидазол и ванкомицин.

Бацитрацин, как и ванкомицин, плохо абсорбируется в кишечнике при приеме внутрь и достигает высокой концентрации в просвете толстой кишки. Однако его клиническая эффективность переменна и зависит от действия большого количества факторов. Препарат применяется внутрь в дозе 20 000–25 000 МЕ 4 раза в сутки в течение 7–10 дней.

Эффективность *тейкопланина* и *фузидиевой кислоты* сравнима с таковой у ванкомицина и ме-

тронидазола [104, 168–171], однако опыт использования этих антибиотиков крайне ограничен.

Поиск новых эффективных антибактериальных препаратов ведется постоянно. М.Н. Wilcox и соавт. установили, что среди фторхинолонов наибольшей активностью в отношении *C. difficile* обладает *моксифлоксацин*. Однако на основании изучения штаммов, выделенных в Великобритании, они пришли к выводу о нецелесообразности использования этих препаратов в связи с быстрым формированием резистентности возбудителя к фторхинолонам [172].

Определенные надежды возлагались на новые препараты из группы макролидов, в частности на *телитромицин*. Однако оказалось, что он подавляет рост только 46–56% штаммов *C. difficile* [173].

Другие препараты

Наряду с поиском новых антибиотиков, обладающих активностью в отношении *C. difficile*, изучаются препараты, которые могли бы использоваться в качестве дополнительной терапии болезней, вызванных данным возбудителем.

Анионообменные смолы, такие, как *холестир-амин* и *колестипол*, используемые для лечения гиперхолестеринемии, обладают способностью связывать токсин В, продуцируемый *C. difficile*. Ряд авторов предлагает применять их для лечения легких форм болезни или для закрепления эффекта антимикробной терапии в качестве препаратов второго ряда, а также в комплексном лечении рецидивов инфекции *C. difficile*.

Однако данные об эффективности этих препаратов весьма противоречивы. Так, в одном проспективном исследовании клинический эффект терапии колестиполом отмечался только у 5 из 14 пациентов с микробиологически подтвержденной инфекцией *C. difficile*. В другом ретроспективном исследовании из 19 пациентов, получавших холестирамин, у 37% был зарегистрирован неудовлетворительный ответ на терапию. Более того, имеются сообщения о возможности абсорбции холестирамина в желудочно-кишечном тракте и поступлении его в системный кровоток.

Установлено, что причинами вариабельной эффективности холестирамина являются изменение рН кишечника и конкурентные взаимодействия с некоторыми компонентами кишечного содержимого [174]. В связи с этим он не рекомендуется для рутинного использования при *C. difficile*-ассоциированных болезнях.

В результате изучения 14 препаратов, содержащих *соли висмута*, установлено, что наибольшей активностью *in vitro* обладают синтетические пре-

параты висмута, МПК которых для данного возбудителя составляет <1 мг/л [175]. Механизм антимикробной активности этих препаратов в отношении *C. difficile* пока не изучен.

Широко обсуждается целесообразность использования *гормональных препаратов* при лечении *C. difficile*-ассоциированной диареи. Это связано с обнаружением определенной взаимосвязи между уровнем глюкокортикоидов в крови и степенью выраженности секреторного эффекта, развивающегося в результате действия токсина А, продуцируемого *C. difficile*.

В экспериментах установлено, что введение *дексаметазона* лабораторным крысам приводит к ингибированию индуцированной токсином А секреции в тонкой кишке, снижению активности воспалительной реакции и уменьшению продукции макрофагального воспалительного белка 2 [176]. И наоборот, применение антагонистов глюкокортикоидных рецепторов RU-486 способствует увеличению степени выраженности воспалительного процесса и усилению секреции в тонкой кишке [176].

Экспериментальные исследования, проведенные в последнее десятилетие прошлого века, подтверждают ведущую роль в патогенезе диареи нейрогуморальных механизмов, реализующихся при участии таких веществ, как *5-гидрокситриптамин*, *субстанция Р*, *вазоактивный интестинальный полипептид*. Установлено, что токсин, продуцируемый *V. cholerae*, энтеротоксины *E. coli* и токсин А *C. difficile* запускают эти механизмы при развитии диареи.

Эти знания открывают новое направление в создании антисекреторных средств – изучение возможностей использования с этой целью антагонистов 5-НТ-рецепторов, антагонистов субстанции Р, ингибиторов фермента энкефалиназы, содержащейся в нервной ткани [156].

Тактика антибактериальной терапии

Первый эпизод

Этиотропная терапия первичного эпизода *C. difficile*-ассоциированной диареи или колита (в том числе ПМК) проводится *метронидазолом* или *ванкомицином*. Во всех возможных случаях используются пероральные формы препаратов. По описанным причинам предпочтительным является метронидазол.

Показаниями к назначению ванкомицина остаются только случаи *C. difficile*-ассоциированной диареи при отсутствии эффекта от адекватных доз метронидазола и, возможно, лечение тяжелых форм болезни, в том числе и ПМК [177].

Стандартная схема применения метронидазола предусматривает назначение по 500 мг 4 раза в сутки перорально. Курс лечения – 10 – 14 дней.

Ванкомицин применяют внутрь в дозе 125 мг 4 раза в сутки в течение 7–14 дней.

Если состояние больного не улучшается в течение нескольких суток, то необходимо исключить кишечную непроходимость и другие синдромо-подобные болезни.

В некоторых случаях пациенты не могут принимать препараты внутрь в связи с развитием паралитической кишечной непроходимости, обструкцией кишечника, оперативным вмешательством или санацией желудочно-кишечного тракта через постоянный назогастральный зонд. Однако пока нет убедительных данных об эффективности парентеральной антибиотикотерапии *C. difficile*-ассоциированных инфекций. Одним из вариантов лечения в таких условиях является внутривенное введение метронидазола. Однако данные об эффективности такого подхода противоречивы.

В одном клиническом исследовании внутривенное применение метронидазола продемонстрировало высокую эффективность у 6 пациентов с синдромом острого живота, ААК (ПМК в 5 случаях) и положительными результатами реакции латекс-агглютинации на *C. difficile*. Параллельно 3 пациентам вводился ванкомицин через назогастральный зонд.

В то же время в других исследованиях продемонстрирована низкая эффективность терапии парентеральными формами этого препарата [178]. В отношении использования парентеральных форм ванкомицина также имеются неоднозначные данные как подтверждающие эффективность данного режима, так и опровергающие ее [178]. Так, например, в одном исследовании при лечении пациентов с *C. difficile*-ассоциированными болезнями уровень ванкомицина не определялся в кале даже после 5 сут использования его парентеральной формы [179].

Встречаются описания исследований различных режимов терапии, включавших сочетание нескольких способов введения одного или нескольких препаратов. Некоторые авторы предлагают ректальное введение ванкомицина в сочетании с введением ванкомицина или метронидазола внутривенно или через назогастральный зонд [180, 181].

Ванкомицин может вводиться как в виде лекарственных микроклизм, так и через постоянный катетер, установленный при колоноскопии. Тем не менее безопасность и эффективность такого метода остаются не изученными. Более того, имеются сообщения о возможности поступления препарата в системный кровоток при длительной инстилляции в кишечник.

Отсутствие проспективных контролируемых клинических исследований эффективности различных схем терапии при невозможности приема препарата внутрь не позволяет дать четкие рекомендации. Тем не менее предлагаются следующие режимы лечения:

- внутривенно метронидазол 500 мг каждые 6–8 ч;
- ванкомицин через назогастральный зонд в дозе 500 мг каждые 6 ч;
- ванкомицин в виде лекарственных микроклизм в дозе 500 мг каждые 4–8 ч;
- вливание ванкомицина через катетер, введенный в толстую кишку [153, 182].

В редких случаях у пациентов с тяжелым течением патологии кишечника выраженным преимуществом обладают хирургическая декомпрессия кишечника и непосредственное введение ванкомицина или метронидазола через колостому [153].

У отдельных пациентов, особенно при развитии таких осложнений, как токсический мегаколон или перфорация кишечника, спасительной процедурой является хирургическое вмешательство. По данным разных авторов, частота необходимых хирургических вмешательств у пациентов с *C. difficile*-ассоциированными болезнями составляет 0,39–3,6%. Показаниями к операции являются: сохранение или прогрессирование симптомов интоксикации, непрерывная диарея, симптомы перитонита или перфорации кишки, усиление изменений в толстой кишке, подтвержденное при повторном томографическом исследовании. В этих случаях проводятся илеостомия, цекостомия или декомпрессивная колостомия.

Операцией выбора у пациентов с фульминантным токсическим мегаколоном, связанным с ПМК, является субтотальная или тотальная колэктомия [183].

Летальность при *C. difficile*-ассоциированном колите, требующем хирургического лечения, колеблется от 30 до 50%.

Рецидив инфекции

Одна из нерешенных проблем *C. difficile*-ассоциированных болезней – рецидивирование инфекции. Частота рецидивов колеблется от 5 до 53%. У 2–8% пациентов, получавших специфическую терапию, отмечаются множественные рецидивы – 5 и более [10, 117, 149, 150, 168]. По данным M.J. Zimmerman и соавт., рецидивы развивались у 5–16% пациентов, получавших метронидазол, у 16–33% – лечившихся ванкомицином и у 42% – после полного курса терапии бацитрацином [171].

Наиболее рациональное объяснение рецидивирования инфекции *C. difficile* – персистирование спор возбудителя, которые могут выживать даже

при высоких концентрациях ванкомицина в просвете кишечника и сохранять жизнеспособность как во время терапии, так и после ее завершения. Механизм развития рецидива *C. difficile*-ассоциированной диареи или колита у пациентов, получавших метронидазол и ванкомицин, различен.

Так, концентрация метронидазола в кале по мере исчезновения диареи резко снижается, что может стать причиной сохранения жизнеспособных спор возбудителя. В то же время даже высокие концентрации ванкомицина обладают в отношении *C. difficile* бактериостатическим действием, что позволяет микроорганизму выжить в условиях действия антибиотика [164]. В результате исследований установлено, что, несмотря на концентрацию ванкомицина в просвете толстой кишки, в несколько сотен раз превышавшей его МПК для *C. difficile*, добиться полной эрадикации возбудителя практически не удалось. Объяснить этот факт можно, вероятно, персистированием спор возбудителя и прорастанием их в вегетативные формы после прекращения приема ванкомицина или метронидазола. Размножающиеся бактерии сохраняют способность к токсинообразованию, что и обуславливает развитие рецидивов болезни.

Тактика лечения при возникновении рецидивов основана на тех же принципах, что и при лечении первого эпизода. Как правило, пациенты с повторным эпизодом *C. difficile*-ассоциированного заболевания хорошо отвечают на повторный курс ванкомицина или метронидазола: у 92% пациентов в последующем не возникает рецидивов диареи [117].

Принципиальное значение при повторных курсах антибактериальной терапии имеет назначение более длительного лечения, использование комбинации антибиотиков, интенсивное применение дополнительных неспецифических методов терапии и восстановление нарушенной микроэкологии кишечника. К числу предлагаемых вариантов терапии рецидивов инфекции *C. difficile* относятся:

- комбинированное применение ванкомицина и рифампицина [184];
- пульс-терапия ванкомицином с последующим его приемом в снижающейся суточной дозе [185];
- использование традиционных схем лечения (ванкомицин или метронидазол внутрь) в сочетании с длительным курсом холестирамина [186];
- курсы ванкомицина с последующим применением *Saccharomyces boulardii* [187];
- использование метронидазола или бацитрацина с последующим пероральным приемом культуры *Lactobacillus GG* [188].

Некоторые авторы рассматривают такие методы лечения, как пероральное применение культуры нетоксигенных штаммов *C. difficile* [189], прием IgA внутрь [190], ирригация кишечника раствором полиэтиленгликоля [191], введение в микроклизмах взвеси различных факультативных аэробов и анаэробов [192].

В одном мультицентровом плацебоконтролируемом сравнительном клиническом исследовании было продемонстрировано, что при пероральном применении *Saccharomyces boulardii* (курс – 4 нед) в сочетании с традиционной антимикробной терапией рецидивирующих *C. difficile*-ассоциированных болезней достоверно снижалось число неудовлетворительных результатов [193]. В то же время подобного эффекта не отмечалось при лечении первого эпизода диареи и колита.

При тяжелых рецидивирующих формах колита, вызванного *C. difficile*, особенно у лиц с подтвержденным низким титром специфических IgG к токсину А, эффективно внутривенное введение гамма-глобулина [194, 195].

Перечисленные методы использовались только при отсутствии эффекта от повторных курсов специфической антимикробной терапии или в качестве дополнительных средств лечения.

S.L. Gorbach и соавт. рекомендуют лечить рецидивы инфекции *C. difficile* в 2 этапа.

На первом этапе – 10–14-дневный курс терапии ванкомицином или метронидазолом.

На втором этапе – пульс-терапия ванкомицином по схеме: внутрь в дозе 125 мг через сутки в течение 4 нед [149]. На этом этапе вместо антибактериальной терапии можно использовать холестирамин внутрь по 4 г 3 раза в день в сочетании с биопрепаратами, содержащими лактобактерии (например, *Lactinex*) по 1 г 4 раза в день.

Длительность курса – 4 нед.

Целью данной схемы лечения является остановка размножения *C. difficile* на первом этапе терапии и окончательное ингибирование размножения и токсинообразования на втором этапе, в течение которого обязательно проведение мероприятий по восстановлению микроэкосистемы желудочно-кишечного тракта, прежде всего толстой кишки. Вместе с тем эффективность данной схемы, как и других терапевтических подходов, требует проведения большего числа клинических исследований.

Восстановление биоценоза кишечника

В отличие от антибиотиков биопрепараты, содержащие культуры бактерий (пробиотики), могут использоваться скорее не как средство лечения, а

как препараты для профилактики *C. difficile*-ассоциированных болезней [196, 197].

Для лечения и профилактики *C. difficile*-ассоциированных болезней используют *B. longum*, *Lactobacillus* GG или *Saccharomyces boulardii*, комбинированные препараты на основе *L. acidophilus* и *L. bulgaricus*, йогурты на основе *L. casei* GG, ферментированного молока [198, 199, 200].

Существенное снижение частоты рецидивов *C. difficile*-ассоциированных болезней отметили С.М. Surawicz и соавт. при применении двухэтапной терапии. Согласно их схеме на первом этапе назначаются высокие дозы ванкомицина (до 2 г/сут) в течение 10 дней, на втором – препараты, содержащие *S. boulardii* (1 г/сут) в течение 28 дней.

При сравнительном анализе у пациентов, получавших монотерапию ванкомицином, частота рецидивов составила 50%, в то время как у пациентов, получавших двухэтапную терапию, – только 16,7% [187].

Об эффективности профилактического применения пробиотиков свидетельствуют результаты использования биологически активного комплекса, содержащего *Bifidobacterium longum* 536, *Lactobacillus acidophilus* NCFB 1748 и неусваиваемый олигосахарид олигофруктозу. Ежедневный прием этого комплекса в сочетании с обычным питанием позволяет предупредить колонизацию кишечника *C. difficile* у пациентов, получающих пероральные формы антибиотиков [201].

Заключение

Необходимо еще раз отметить, что *C. difficile*-ассоциированные болезни, занимая одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и летальности среди инфекционных диарей, представляют серьезную проблему антимикробной терапии в условиях стационара. В то же время в нашей стране этому вопросу не уделяется должного внимания. В большинстве стационаров не проводятся диагностика и регистрация случаев *C. difficile*-ассоциированной диареи. Связано это как с недостаточным представлением практическими врачами вопросов, касающихся инфекции *C. difficile*, так и с отсутствием соответствующей лабораторной базы, не позволяющем проводить микробиологическую диагностику болезней, вызванных этим возбудителем.

В связи с этим существует необходимость в расширении знаний вопросов, связанных с инфекцией *C. difficile*, проведения дополнительных клинических и эпидемиологических исследований, разработки отечественных питательных сред и

диагностических тест-систем, расширения рынка антимикробных препаратов, используемых для лечения *C. difficile*-ассоциированных болезней, а также создания единых, основанных на доказа-

тельных данных рекомендаций по диагностике, лечению и профилактике этой инфекции с учетом региональных и локальных особенностей.

Литература

- Garthright W.E., Archer D.I., Kvenberg J.E. Estimates of incidence and cost of intestinal infectious diseases in the United States. *Public Health Rep* 1988; 103:107-15.
- Тайц Б.М., Зуева Л.П. Инфекционный контроль в лечебно-профилактических учреждениях. СПб: СПбГМА им. И.И. Мечникова; 1998. с. 295.
- Frost F., Craun G.F., Calderon R.L. Increasing Hospitalization and Death Possibly Due to *Clostridium difficile* Diarrheal Disease. *Emerg Infect Dis* 1998; 4:619-25.
- Bartlett J.G. Antibiotic-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1992; 15:573-81.
- McFarland L.V. Epidemiology, risk factors and treatments for antibiotic-associated diarrhea. *Diagn Dis* 1998; 16:292-307.
- McFarland L.V., Surawicz C.M., Rubin M., Fekety R., Elmer G.W., Greenberg R.N. Recurrent *Clostridium difficile* disease: epidemiology and clinical characteristics. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1999; 20:43-50.
- Bartlett J.G. Antibiotic-associated colitis. *Dis Mon* 1984; 30:1-55.
- Малов В.А., Бондаренко В.М., Пак С.Г. Роль *Clostridium difficile* в патологии человека. *Журнал микробиол* 1996; 1:91-6.
- Ерюхин И.А., Шляпников С.А., Лебедев В.Ф., Иванов Г.А. Псевдомембранозный колит и «кишечный сепсис» – следствие дисбактериоза, вызванного антибиотиками. *Вестн хир* 156 (2):108-11.
- Mylonakis E., Ryan E.T., Calderwood S.B. *Clostridium difficile*-associated diarrhea: A review. *Arch Intern Med* 2001; 161:525-33.
- Clostridium difficile* in England and Wales – weeks 1-26/99. *Commun Dis Rep CDR Wkly* 1999; 9:366.
- Wistrom J., Norrby S.R., Myhre E.B., Eriksson S., Granstrom G., Lagergren L., Englund G., Nord C.E., Svenungsson B. Frequency of antibiotic-associated diarrhoea in 2462 antibiotic-treated hospitalized patients; a prospective study. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47:43-50.
- Mayfield J.L., Leet T., Miller J., Mundy L.M. Environmental control to reduce transmission of *Clostridium difficile*. *Clin Infect Dis* 2000;31:995-1000.
- Finney J.M. Gastroenterostomy for cicatrizing ulcer of the pylorus. *Johns Hopkins Hosp Bull* 1893; 11:53-5.
- Bennet I.L., Wood J.S., Yardley H.H. Staphylococcal pseudomembranous enterocolitis in chinchillas: A clinico-pathologic study. *Trans Assoc Am Physician* 1956; 69:116.
- Dearing W.H., Baggenstoss A.H., Weed L.A. Studies on the relationship of *Staphylococcus aureus* to pseudomembranous enteritis and to postantibiotic enteritis. *Gastroenterology* 1960; 38:441-51.
- Altemeier W.A., Hummel R.P., Hill E.O. Staphylococcal enterocolitis following antibiotic therapy. *Ann Surg* 1963;157:847-58.
- Fekety R. Staphylococcal diarrhea and enterocolitis. In: Crossley K.B., Archer G.L., eds. *The Staphylococci in Human Disease*. New York: Churchill Livingstone; 1997. p. 545-63.
- Lusk R.H., Fekety F.R. Jr., Silva J. Jr., et al. Gastrointestinal side effects of clindamycin and ampicillin therapy. *J Infect Dis* 1977; 135(Suppl 1):S111-9.
- Gurwith M.J., Rabin H.R., Love K. Diarrhea associated with clindamycin and ampicillin therapy: Preliminary results of a cooperative study. *J Infect Dis* 1977; 135(Suppl 1):S104-10.
- Robertson M.B., Breen K.J., Desmond P.V., et al. Incidence of antibiotic-related diarrhoea and pseudomembranous colitis: A prospective study of linkomycin, clindamycin and ampicillin. *Med J Aust* 1977; 1:243-6.
- Tedesco F.J., Barton R.W., Alpers D.H. Clindamycin-associated colitis. *Ann Intern Med* 1974; 81:429-33.
- Hafiz S. *Clostridium difficile* and Its Toxins [dissertation]. Leeds, England, Univ. Leeds; 1974. PhD.
- Bartlett J.G., Onderdonk A.B., Cisneros R.L., Kasper D.L. Clindamycin-associated colitis due to toxin-producing species of *Clostridium difficile* in hamsters. *J Infect Dis* 1977; 136:701-5.
- Bartlett J.G., Chang T.W., Gurwith M., Gorbach S.L., Onderdonk A.B. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. *N Engl J Med* 1978; 298:531-43.
- Rifkin G.D., Fekety F.R., Silva J. Jr. Antibiotic-induced colitis: Implication of a toxin neutralised by *Clostridium sordellii* antitoxin. *Lancet* 1977; 2:1103-6.
- Larson H.E., Price A.B. Pseudomembranous colitis: Presence of clostridial toxin. *Lancet* 1977; 2:1312-4.
- George W.L., Sutter V.L., Citron D. et al. Selective and differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 1979; 9:214-9.
- Lyerly D.M., Allen S.D. The clostridia. In: Emmerson A.M., Hawkey P.M., Gillespie S.H., eds. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology*. Chichester: John Wiley & Sons; 1997. p. 599-623.
- Lai K.K., Melvin Z.S., Menard M.J. et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea: Epidemiology, risk factors, and infection control. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1997; 18:628-32.
- Ho M., Yang D., Wyle F.A., Mulligan M.E. Increased incidence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea following decreased restriction of antibiotic use. *Clin Infect Dis* 1996; 23(Suppl 1):S102-6.

32. Gerding D.N., Johnson S., Peterson L.R., Mulligan M.E., Silva J.Jr. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1995; 16:459-77.
33. Foulke G.E., Silva J.Jr. *Clostridium difficile* in the intensive care unit; management problems and prevention issues. *Crit Care Med* 1989;17:822-6.
34. Kent K.C., Rubin M.S., Wroblewski L., Hanff P.A., Silen W. The impact of *Clostridium difficile* on a surgical service: a prospective study of 374 patients. *Ann Surg* 1998; 227:296-301
35. Delmee M., Vandercam B., Avesani V., Michaux J.L. Epidemiology and prevention of *Clostridium difficile* infections in a leukemia unit. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:623-7.
36. Bender B.S., Bennett R., Laughon B.E., Greenough W.B. 3rd, Gaydos C., Sears S.D., Forman M.S., Bartlett J.G. Is *Clostridium difficile* endemic in chronic care facilities? *Lancet* 1986; 2:11-3.
37. Fekety R., Shah A.B. Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* colitis. *JAMA* 1993; 209:71-5.
38. Samore M.H., DeGirolami P.C., Tlucko A., Lichtenberg D.A., Melvin Z.A., Karchmer A.W. *Clostridium difficile* colonization and diarrhea at a tertiary care hospital. *Clin Infect Dis* 1994; 18:181-7.
39. Stubbs S.L., Brazier J.S., O'Neill G.L., Duerden B.I. PCR targeted to the 16S-23S rRNA gene intergenic spacer region of *Clostridium difficile* and construction of a library consisting of 116 different PCR ribotypes. *J Clin Microbiol* 1999; 37:461-3.
40. Kato H., Kato N., Watanabe K., Yamamoto T., Suzuki K., Ishigo S., Kunihiro S., Nakamura I., Killgore G.E., Nakamura S. Analysis of *Clostridium difficile* Isolates from Nosocomial Outbreaks at Three Hospitals in Diverse Areas of Japan. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1391-5.
41. Van Dijk P., Avesani V., Delmee M. Genotyping of outbreak-related and sporadic isolates of *Clostridium difficile* belonging to serogroup C. *J Clin Microbiol* 1996; 34:3049-55.
42. Samore M.H., Bettin K.M., DeGirolamini P.C. et al. Wide diversity of *Clostridium difficile* types at a tertiary referral hospital. *J Infect Dis* 1994; 170:615-21.
43. O'Neil G.L., Beaman M.H., Riley T.V. Relapse vs reinfection with *Clostridium difficile*. *Epidemiol Infect* 1991; 107:627-35.
44. Wilcox M.H., Fawley W.N. Hospital disinfectants and spore formation by *Clostridium difficile*. *Lancet* 2001; 356:1324.
45. Nath S.K., Thornley J.H., Kelly M., Kucera B., On S.L., Holmes B., Costas M. A sustained outbreak of *Clostridium difficile* in a general hospital: persistence of a toxigenic clone in four units. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1994; 15:382-9.
46. Testore G.P., Pantosti A., Cerquetti M., et al. Evidence for cross-infection in an outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in surgical unit. *J Med Microbiol* 1988; 26:125-8.
47. Clabots C.R., Peterson L.R., Gerding D.N. Characterization of a nosocomial *Clostridium difficile* outbreak by using plasmid profile typing and clindamycin susceptibility testing. *J Infect Dis* 1988; 158:731-6.
48. Johnson S., Gerding D.N. *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1027-36.
49. Nolan N.P., Kelly C.P., Humphreys J.F. et al. An epidemic of pseudomembranous colitis: importance of person to person spread. *Gut* 1987; 28:1467-73.
50. Clabots C.R., Johnson S., Olson M.M., Peterson L.R., Gerding D.N. Acquisition of *Clostridium difficile* by hospitalized patients: evidence for colonized new admissions as a source of infection. *J Infect Dis* 1992; 166:561-7.
51. Hall I.C., O'Toole E. Intestinal flora in newborn infants. *Am J Dis Child* 1935; 49:390-402.
52. Viscidi R., Wiley S., Bartlett J.G. Isolation rates and toxigenic potential of *Clostridium difficile* isolates from various patient populations. *Gastroenterology* 1981; 81:5-9.
53. Eglow R., Pothoulakis C., Itzkowitz S., et al. Diminished *Clostridium difficile* toxin A sensitivity in newborn rabbit ileum is associated with decreased toxin A receptor. *J Clin Invest* 1992; 90:822-9.
54. Rolfe R.D., Song W. Immunoglobulin and non-immunoglobulin components of human milk inhibit *Clostridium difficile* toxin A-receptor binding. *J Med Microbiol* 1995; 42:10-9.
55. Dallas S.D., Rolfe R.D. Binding of *Clostridium difficile* toxin A to human milk secretory component. *J Med Microbiol* 1998; 47:879-88.
56. Kamaras J., Murrell W.G. Intestinal epithelial damage in sids babies and its similarity to that caused by bacterial toxins in the rabbit. *Pathology* 2001; 33:197-203.
57. Aronsson B., Mollby, Nord C.E. Antimicrobial agents and *Clostridium difficile* in acute enteric disease: epidemiologic data from Sweden 1981-1982. *J Infect Dis* 1985; 151:476-81.
58. Nakamura S., Mikawa M., Takabatake M., et al. Isolation of *Clostridium difficile* from the feces and antibody in sera of young and elderly adults. *Microbiol Immunol* 1981; 25:345-51.
59. Thielman N.M. Antibiotic-associated colitis. In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 1111-26.
60. Shim J.K., Johnson S., Samore M.H., Bliss D.Z., Gerding D.N. Primary symptomless colonisation by *Clostridium difficile* and decreased risk of subsequent diarrhea. *Lancet* 1998; 351:633-6.
61. McFarland L.V., Mulligan M., Kwok R.Y.Y., Stamm W.E. Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989; 320:204-10.
62. Johnson S., Gerding D.N., Olson M.M., Weiler M.D., Hughes R.A., Clabots C.R., Peterson L.R. Prospective, controlled study of vinyl glove use to interrupt *Clostridium difficile* nosocomial transmission. *Am J Med* 1990; 88:137-40.
63. Fekety R., Kim K.H., Brown D., et al. Epidemiology of antibiotic associated colitis: isolation of *Clostridium difficile* from the hospital environment. *Am J Med* 1981; 70:906-8.
64. Malamou-Ladas H., O'Farrell S., Nash J.Q., Tabaqchali S. Isolation of *Clostridium difficile* from patients and the environment of hospital wards. *J Clin Pathol* 1983; 36:88-92.

65. Kim K.H., Fekety R., Batts D.H., et al. Isolation of *Clostridium difficile* from the environment and contacts of patients with antibiotic-associated colitis. *J Infect Dis* 1981;143:42-50.
66. Simor A.E., Yake S.L., Tsimidis K: Infection due to *Clostridium difficile* among elderly residents of a long-term care facility. *Clin Infect Dis* 1993; 17:672-8.
67. Riley T.V., Adams J.E., O'Neil G.L., Bowman R.A. Gastrointestinal carriage of *Clostridium difficile* in cats and dogs attending veterinary clinics. *Epidemiol Infect* 1991; 107:659-65.
68. Greenfield C., Aguilar Ramirez J.R., Pounder R.E., et al. *Clostridium difficile* and inflammatory bowel disease. *Gut* 1983;24:713-7.
69. Hirschhorn L.R., Tinka Y., Onderdonk A., Lee M-L.T., Platt R. Epidemiology of community-acquired *Clostridium difficile* associated diarrhea. *J Infect Dis* 1994; 169:127-33.
70. Pear S., Williamson T., Bettin K., Gerding D.N., Galgiani J.N. Decrease in nosocomial *Clostridium difficile*-associated diarrhea by restricting clindamycin use. *Ann Intern Med* 1994; 120:272-7.
71. Anand A., Bashey B., Mir T., Glatt A.E. Epidemiology, clinical manifestations, and outcome of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Am J Gastroenterol* 1994; 89:519-23.
72. Anand A., Glatt A.E. *Clostridium difficile* infection associated with antineoplastic chemotherapy: a review. *Clin Infect Dis* 1993; 17:109-13.
73. Emoto M., Kawarabayashi T., Hachisuga M.D., et al. *Clostridium difficile* colitis associated with cisplatin-based chemotherapy in ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol* 1996; 61:369-72.
74. Grube B.J., Heimbach D.M., Marvin J.A. *Clostridium difficile* diarrhea in critically ill burned patients. *Arch Surg* 1987; 122:655-61.
75. Aronsson B., Barany P., Nord C.E., et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in uremic patients. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:352-6.
76. Heard S.R., Wren B., Barnett M.J., et al. *Clostridium difficile* infection in patients with haematological malignant disease. Risk factors, faecal toxins and pathogenic strains. *Epidemiol Infect* 1988; 100:63-72.
77. Pierce P.F. Jr., Wilson R., Silva J.Jr., et al. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis: an epidemiologic investigation of a cluster of cases. *J Infect Dis* 1982; 45:269-74.
78. Buchner A.M., Sonnenberg A. Medical diagnoses and procedures associated with *Clostridium difficile* colitis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96:766-72.
79. Cheng S.H., Lu J.J., Young T.G., Perng C.L., Chi W.M. *Clostridium difficile*-associated diseases: comparison of symptomatic infection versus carriage on the basis of risk factors, toxin production, and genotyping results. *Clin Infect Dis* 1997; 25:157-8.
80. Mody L.R., Smith S.M., Dever L.L. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a VA medical center: clustering of cases, association with antibiotic usage, and impact on HIV-infected patients. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2001; 22:42-5.
81. Selva O'Callaghan A., Yuste M., Armadansa L., Almirante Gragerab B., San Jose Laporte A., Vilardell Tarres M. Factors for *Clostridium difficile*-associated diarrhea in elderly patients. A case-control study. *Med Clin (Barc)* 2000; 115:499-500.
82. McFarland L.V., Surawicz C.M., Stamm W.E. Risk factors for *Clostridium difficile* carriage and *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a cohort of hospitalized patients. *J Infect Dis* 1990; 62:678-84.
83. Goldhill J.M., Rose K., Percy W.H. Effect of antibiotics on epithelial ion transport in the rabbit distal colon in vitro. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48:651-6.
84. Salyers, Abigail A. Pseudomembranous Colitis: A Disease Caused by Antibiotics. In: Salyers, Abigail A. Bacterial pathogenesis: a molecular approach. Washington: American Society for Microbiology; 1994. p. 282-9.
85. Allen S.D., Emery C.L., Siders J.A. *Clostridium*. In: Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H., editors. Manual of clinical microbiology. 7th ed. Washington D.C.: American Society for Microbiology; 1999. p. 654-72.
86. Just I., Selzer J., Wilm M., von Eichel-Streiber C., Mann M., Aktories K. Glycosylation of Rho proteins by *Clostridium difficile* toxin B. *Nature* 1995; 375: 500-3.
87. Hecht G., Pothoulakis C., LaMont J.T., Madara J.L. *Clostridium difficile* toxin A perturbs cytoskeletal structure and tight junction permeability of cultured human intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest* 1988; 82:1516-24.
88. Nusrat A., von Eichel-Streiber C., Turner J.R., Verkade P., Madara J.L., Parkos C.A. *Clostridium difficile* toxins disrupt epithelial barrier function by altering membrane microdomain localization of tight junction proteins. *Infect Immun* 2001; 69:1329-36.
89. Feltis B.A., Wiesner S.M., Kim A.S., Erlandsen S.L., Lyerly D.L., Wilkins T.D., Wells C.L. *Clostridium difficile* toxins A and B can alter epithelial permeability and promote bacterial paracellular migration through HT-29 enterocytes. *Shock* 2000; 14:629-34.
90. Hatheway C.L. Toxigenic clostridia. *Clin Microbiol Rev* 1990; 3:66-98.
91. Seddon S.V., Hemingway I., Borriello S.P. Hydrolytic enzyme production by *Clostridium difficile* and its relationship to toxin production and virulence in the hamster model. *J Med Microbiol* 1990; 31:169-74.
92. Cohen S.H., Tang Y.J., Silva J. Jr. Analysis of the Pathogenicity Locus in *Clostridium difficile* Strains. *J Infect Dis* 2000; 181:659-63.
93. Mani N., Dupuy B. Regulation of toxin synthesis in *Clostridium difficile* by an alternative RNA polymerase sigma factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:5844-9.
94. Borriello S.P., Wren B.W., Hyde S., et al. Molecular, immunological, and biological characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile*. *Infect Immun* 1992; 60:4192-9.
95. Guerrant R.L., Lima A.A.M., Thielman N.M., et al. Diarrhea, demography and cell signaling: Lessons from microbial toxins. *Am Clin Climat Assn* 1997; 108:149-64.

96. Bartlett J.D. *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. In: Gorbach S.L., Bartlett J.G., Blacklow N.R. Infectious diseases. 2nd edition. Washington D.C.: W.B. Saunders Company; 1998. p. 748-56.
97. Torres J., Jennische E., Lange S., Lonnroth I. Enterotoxins from *Clostridium difficile*; diarrhoeogenic potency and morphological effects in the rat intestine. Gut 1990; 31:781-5.
98. Pothoulakis C., Sullivan R., Melnick D.A., Triadafilopoulos G., Gadenne A.S., Meshulam T., LaMont J.T. *Clostridium difficile* toxin A stimulates intracellular calcium release and chemotactic response in human granulocytes. J Clin Invest 1988; 81:1741-5.
99. Fonteles M., Fang G., Thielman N.M., et al. Role of platelet activating factor in the inflammatory and secretory effects of *Clostridium difficile* toxin A. J Lipid Mediat Cell Signal 1995; 11:133-43.
100. Castagliuolo I., Keates A.C., Qui B., et al. Increased substance P responses in dorsal root ganglia and intestinal macrophages during *Clostridium difficile* toxin A enteritis in rats. Proc Natl Acad Sci USA 1997; 94:4788-93.
101. Steiner T.S., Flores C.A., Pizarro T.T., Guerrant R.L. Fecal lactoferrin, interleukin-1beta, and interleukin-8 are elevated in patients with severe *Clostridium difficile* colitis. Clin Diagn Lab Immunol 1997; 4:719-22.
102. Rocha M.F., Maia M.E., Bezerra L.R., et al. *Clostridium difficile* toxin A induces the release of neutrophil chemotactic factors from rat peritoneal macrophages: Role of interleukin-1beta, tumor necrosis factor alpha, and leukotrienes. Infect Immunol 1997; 65:2740-6.
103. Mantyh C.R., McVey D.C., Vigna S.R. Extrinsic surgical denervation inhibits *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis in rats. Neurosci Lett 2000; 292:95-8.
104. Högenauer C., Hammer H.F., Krejs G.J., Reisinger E.C. Mechanisms and management of antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis 1998; 27:702-70.
105. Barth H., Pfeifer G., Hofmann F., Maier E., Benz R., Aktories K. Low pH-induced formation of ion channels by *Clostridium difficile* toxin B in target cells. J Biol Chem 2001; 276:10670-6.
106. Rocha M.F., Soares A.M., Ribeiro R.A., Lima A.A. Absence of intestinal secretion on supernatants from macrophages stimulated with *Clostridium difficile* toxin B on rabbit ileum. Toxicon 2001; 39:335-40.
107. Pothoulakis C., Lamont J.T. Microbes and microbial toxins: paradigms for microbial-mucosal interactions II. The integrated response of the intestine to *Clostridium difficile* toxins. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2001; 280:G178-83.
108. Borriello S.P., Davies H.A., Barclay F.E. Detection of fimbriae amongst strains of *Clostridium difficile*. FEMS Microbiol Lett 1988; 49:65-7.
109. Hennequin C., Porcheray F., Waligora-Dupriet A.J., Collignon A., Barc M.C., Bourlioux P., Karjalainen T. GroEL (Hsp60) of *Clostridium difficile* is involved in cell adherence. Microbiology 2001; 147(Pt 1):87-96.
110. Waligora A.J., Hennequin C., Mullany P., Bourlioux P., Collignon A., Karjalainen T. Characterization of a cell surface protein of *Clostridium difficile* with adhesive properties. Infect Immun 2001; 69:2144-53.
111. Karjalainen T., Waligora-Dupriet A.J., Cerquetti M., Spigaglia P., Maggioni A., Mauri P., Mastrantonio P. Molecular and genomic analysis of genes encoding surface-anchored proteins from *Clostridium difficile*. Infect Immun 2001; 69:3442-6.
112. Tasteyre A., Karjalainen T., Avesani V., Delmee M., Collignon A., Bourlioux P., Barc M.C. Molecular characterization of *fliD* gene encoding flagellar cap and its expression among *Clostridium difficile* isolates from different serogroups. J Clin Microbiol 2001; 39:1178-83.
113. Kelly P.J., Peterson L.R. The role of clinical microbiology laboratory in the management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Infect Dis Clin North Am 1993; 7:277-93.
114. Putterman C., Rubinow A. Reactive arthritis associated with *Clostridium difficile* pseudomembranous colitis. Semin Arthritis Rheum 1993; 22:420-6.
115. Jacobs A., Barnard K., Fishel R., Gradon J.D. Extracolonic manifestations of *Clostridium difficile* infections. Presentation of 2 cases and review of the literature. Medicine (Baltimore) 2001; 80:88-101.
116. Sakurai T., Hajiro K., Takakuwa H., Nishi A., Aihara M., Chiba T. Liver abscess caused by *Clostridium difficile*. Scand J Infect Dis 2001; 33:69-70.
117. Olson M.M., Shanholtzer C.J., Lee J.T. Jr., Gerding D.N. Ten years of prospective *Clostridium difficile*-associated disease surveillance and treatment at the Minneapolis VA Medical Center, 1982-1991. Infect Control Hosp Epidemiol 1994; 15:371-81.
118. Kyne L., Warny M., Qamar A., Kelly C.P. Association Between Antibody Response to Toxin A and Protection Against Recurrent *Clostridium difficile* Diarrhea. Lancet 2001; 357:189-93.
119. Aronsson B., Mollby R., Nord C.E. Diagnosis and epidemiology of *Clostridium difficile* enterocolitis in Sweden. J Antimicrob Chemother 1984; 14:85-95.
120. Bulusu M., Narayan S., Shetler K., Triadafilopoulos G. Leukocytosis as a harbinger and surrogate marker of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with diarrhea. Am J Gastroenterol 2000; 95:3137-41.
121. Savola K.L., Baron E.J., Tompkins L.S., Passaro D.J. Fecal leukocyte stain has diagnostic value for outpatients but not inpatients. J Clin Microbiol 2001; 39:266-9.
122. Boland G.W., Lee M.J., Cats A., Mueller P.R. Pseudomembranous colitis: diagnostic sensitivity of the abdominal plain radiograph. Clin Radiol 1994; 49:473-5.
123. Blickman J.G., Boland G.W., Cleveland R.H., Bramson R.T., Lee M.J. Pseudomembranous colitis: CT findings in children. Pediatr Radiol 1995; 25:S157-9.
124. Kirkpatrick I.D., Greenberg H.M. Evaluating the CT diagnosis of *Clostridium difficile* colitis: should CT guide therapy? AJR Am J Roentgenol 2001; 176:635-963.
125. Bergstain J.M., Kramer A., Wittman D.H., Aprahamian C., Quebbeman E.J. Pseudomembranous colitis: how useful is endoscopy? Surg Endosc 1990; 4:217-9.
126. Peterson L.R., Holter J.J., Shanholtzer C.J., Garrett C.R., Gerding D.N. Detection of *Clostridium diffi-*

- cile toxins A (enterotoxin) and B (cytotoxin) in clinical specimens. Evaluation of a latex agglutination test. *Am J Clin Pathol* 1986; 86:208-11.
127. Lysterly D.M., Barroso L.A., Wilkins T.D., et al. Characterization of a toxin A-negative, toxin B-positive strain of *Clostridium difficile*. *Infect Immun* 1992; 60:4633-9.
 128. Peterson L.R., Olson M.M., Shanholtzer C.J., et al. Results of a prospective, 18-month clinical evaluation of culture, Cytotoxin testing and culturette brand (CDT) latex testing in the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1988; 10: 85-91.
 129. Staneck J.L., Weckbach L.S., Allen S.D., Siders J.A., Gilligan P.H., et al. Multicenter evaluation of four methods for *Clostridium difficile* detection: ImmunoCard C. difficile, cytotoxin assay, culture, and latex agglutination. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2718-21.
 130. Barbut F., Kajzer C., Planas N., et al. Comparison of three enzyme immunoassays, a cytotoxicity assay and toxigenic culture for the diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Microbiol* 1993; 31:963-7.
 131. Katz D.A., Bates D.W., Rittenberg E., et al. Predicting *Clostridium difficile* stool cytotoxin results in hospitalized patients with diarrhea. *J Gen Intern Med* 1997; 12:57-62.
 132. Peterson L.R., Kelly J.P., Nordbrock H.A. Role of culture and toxin detection in laboratory testing for diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15:330-6.
 133. Mundy L.S., Shanholtzer C.J., Willard K.E., Gerding D.N., Peterson L.R. Laboratory detection of *Clostridium difficile*: a comparison of media and incubation conditions. *Am J Clin Pathol* 1994; 103:52-6.
 134. Shanholtzer C.J., Willard K.E., Holter J.J., Olson M.M., Gerding D.N., Peterson L.R. Comparison of the VIDAS *Clostridium difficile* toxin A immunoassay with *C. difficile* culture and cytotoxin and latex tests. *J Clin Microbiol* 1992; 30:1837-40.
 135. Vanpoucke H., De Baere T., Claeys G., Vaneechotte M., Verschraegen G. Evaluation of six commercial assays for the rapid detection of *Clostridium difficile* toxin and/or antigen in stool specimens. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7:55-64.
 136. Manabe Y.C., Vinetz J.M., Moore R.D., et al. *Clostridium difficile* colitis: An efficient clinical approach to diagnosis. *Ann Intern Med* 1995; 123:835-40.
 137. Lozniewski A., Rabaud C., Dotto E., Weber M., Mory F. Laboratory Diagnosis of *Clostridium difficile*-associated Diarrhea and Colitis: Usefulness of Premier Cytoclon A+B Enzyme Immunoassay for Combined Detection of Stool Toxins and Toxigenic *C. difficile* Strains. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1996-2008.
 138. Sultana Q., Chaudhry N.A., Munir M., Anwar M.S., Tayyab M. Diagnosis of *Clostridium difficile* antibiotic associated diarrhea culture versus toxin assay. *J Pak Med Assoc* 2000; 50:246-9.
 139. Depitre C., Delmee M., Avesani V., et al. Serogroup F strains of *Clostridium difficile* produce toxin B but not toxin A. *J Med Microbiol* 1993; 3:434-41.
 140. Sambol S.P., Merrigan M.M., Lysterly D., Gerding D.N., Johnson S. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. *Infect Immun* 2000; 68:5480-7.
 141. Ridell S., Gilligan P., McMilon L. Evaluation of the ImmunoCard Toxin A membrane EIA for *Clostridium difficile* toxin A. Proceedings of the 97th General Meeting of the American Society for Microbiology; 1997; Washington, DC: American Society for Microbiology; 1997. p.165.
 142. Wren B.W., Clayton C.L., Casstledine N.B., et al. Identification of toxigenic *Clostridium difficile* strains by using a toxin A gene-specific probe. *J Clin Microbiol* 1990; 28:1808-12.
 143. Phelps C.J., Lysterly D.L., Johnson J.L., et al. Construction and expression of the complete *Clostridium difficile* toxin A gene in *Escherichia coli*. *Infect Immun* 1991; 59:150-3.
 144. Kato N., Ou C-Y., Kato H., et al. Identification of toxigenic *Clostridium difficile* by the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1991; 29:33-7.
 145. Gummerlock P.H., Tang Y.J., Weiss J.B., Silva J. Jr. Specific detection of toxigenic strains of *Clostridium difficile* in stool specimens. *J Clin Microbiol* 1993; 31:507-11.
 146. Kato N., Ou C-Y., Kato H., et al. Detection of toxigenic *Clostridium difficile* in stool specimens by the polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1993; 167:455.
 147. Kuhl S.J., Tang Y.J., Navarro L., Gummerlock P.H., Silva J. Jr. Diagnosis and monitoring of *Clostridium difficile* infections with the polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 1993; 16 (Suppl 4):S234-8.
 148. Fang F.C., Gerding D.N., Peterson L.R. Diagnosis of *Clostridium difficile* colitis. *Ann Intern Med* 1996; 125:515; discussion 516.
 149. Bartlett J.G. Treatment of *Clostridium difficile* colitis. *Gastroenterology* 1985; 89:1192-5.
 150. Teasley D.G., Gerding D.N., Olson M.M., Peterson L.R., Gebhard R.L., Schwartz M.J., Lee J.T. Jr. Prospective randomised trial of metronidazole versus vancomycin for *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. *Lancet* 1983; 2:1043-6.
 151. Silva J. Jr, Batts D.H., Fekety R., Plouffe J.F., Rifkin G.D., Baird I. Treatment of *Clostridium difficile* colitis and diarrhea with vancomycin. *Am J Med* 1981; 71:815-22.
 152. Антибактериальная терапия: Практическое руководство. Л.С. Страчунский, Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н., ред. М; 2000.
 153. Peterson L.R., Gerding D.N. Antimicrobial agents in *Clostridium difficile*-associated intestinal disease. In: Raubaud J.-C., Ducluzeau R., editors. *Clostridium difficile*-associated Intestinal Diseases. Paris: Springer Verlag; 1990. p. 115-27.
 154. Fekety R., Silva J., Kauffman C., Buggy B., Deery H.G. Treatment of antibiotic-associated *Clostridium difficile* colitis with oral vancomycin: comparison of two dosage regimens. *Am J Med* 1989; 86:15-9.
 155. Bartlett J.G. Treatment of antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Rev Infect Dis* 1984; 6 (Suppl 1):S235-41.

156. Farthing M.J. Novel targets for the pharmacotherapy of diarrhea: a view for the millennium. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:G38-45.
157. Hacek D.M., Bednarz P., Noskin G.A., Zembower T., Peterson L.R. Yield of Vancomycin-Resistant Enterococci and Multidrug-Resistant Enterobacteriaceae from Stools Submitted for *Clostridium difficile* Testing Compared to Results from a Focused Surveillance Program. *J Clin Microbiol* 2001; 39:1152-4.
158. Chow A.W., Cheng N., Bartlett K.H. *In vitro* susceptibility of *Clostridium difficile* to new beta-lactam and quinolone antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28:842-4.
159. Levett P.N. Antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* determined by disc diffusion and breakpoint methods. *J Antimicrob Chemother* 1988; 22:167-73.
160. Лекарственные средства: Пособие по фармакотерапии для врачей. В 2 ч. Ч. 2. Минск; 1987. с. 527.
161. Hoverstad T., Carlstedt-Duke B., Lingaas E., Midtvedt T., Norin K.E., Saxerholt H., Steinbakk M. Influence of ampicillin, clindamycin, and metronidazole on faecal excretion of short-chain fatty acids in healthy subjects. *Scand J Gastroenterol* 1986; 21:621-6.
162. Arabi Y., Dimock F., Burdon D.W., Alexander-Williams J., Keighley M.R. Influence of neomycin and metronidazole on colonic microflora of volunteers. *J Antimicrob Chemother* 1979; 5:531-7.
163. Johnson S., Homann S.R., Bettin K.M., Quick J.N., Clabots C.R., Peterson L.R., Gerding D.N. Treatment of asymptomatic *Clostridium difficile* carriers (fecal excretors) with vancomycin or metronidazole. A randomized, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1992; 117:297-302.
164. Bolton R.P., Culshaw M.A. Faecal metronidazole concentrations during oral and intravenous therapy for antibiotic associated colitis due to *Clostridium difficile*. *Gut* 1986; 27:1169-72.
165. Ings R.M., McFadzean J.A., Ormerod W.E. The fate of metronidazole and its implications in chemotherapy. *Xenobiotica* 1975; 5:223-5.
166. Kleinfeld D.I., Sharpe R.J., Donta S.T. Parenteral therapy for antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *J Infect Dis* 1988; 157(2):389.
167. Wenisch C., Parschlk B., Hasenhundl M., et al. Comparison of vancomycin, teicoplanin, metronidazole and fusidic acid for the treatment of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1996; 22: 813-8.
168. Young G.P., Ward P.B., Bayley N., Gordon D., Higgins G., Trapani J.A., McDonald M.I., Labrooy J., Hecker R. Antibiotic-associated colitis due to *Clostridium difficile*: double-blind comparison of vancomycin with bacitracin. *Gastroenterology* 1985; 89:1038-45.
169. De Lalla F., Nicolini R., Rinaldi E., Scarpellini P., Rigoli R., Manfrin V., Tamarin A. Prospective study of oral teicoplanin versus oral vancomycin for therapy of pseudomembranous colitis and *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:2192-6.
170. Dudley M.N., McLaughlin J.C., Carrington G., Frick J., Nightingale C.H., Quintiliani R. Oral bacitracin vs vancomycin therapy for *Clostridium difficile*-induced diarrhea. A randomized double-blind trial. *Arch Intern Med* 1986; 146:1101-4.
171. Zimmerman M.J., Bak A., Sutherland L.R. Treatment of *Clostridium difficile* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11:1003-12.
172. Wilcox M.H., Fawley W., Freeman J., Brayson J. *In vitro* activity of new generation fluoroquinolones against genotypically distinct and indistinguishable *Clostridium difficile* isolates. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 551-6.
173. Wexler H.M., Molitoris E., Molitoris D., Finegold S.M. *In vitro* activity of telithromycin (HMR 3647) against 502 strains of anaerobic bacteria. *J Antimicrob Chemother* 2001; 47:467-9.
174. Palace G.P., Lazari P., Norton K. Analysis of the physicochemical interactions between *Clostridium difficile* toxins and cholestyramine using liquid chromatography with post-column derivatization. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1546:171-84.
175. Mahony D.E., Lim-Morrison S., Bryden L., Faulkner G., Hoffman P.S., Agocs L., Briand G.G., Burford N., Maguire H. Antimicrobial Activities of Synthetic Bismuth Compounds against *Clostridium difficile*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43:582-8.
176. Castagliuolo I., Karalis K., Valenick L., Pasha A., Nikulasson S., Wlk M., Pothoulakis C. Endogenous corticosteroids modulate *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280:G539-45.
177. Hasan M.S., Smith J.W. Bacterial Infections of the Colon. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2000; 3:249-63.
178. Oliva S.L., Guglielmo B.J., Jacobs R., Polis V.G. Failure of intravenous vancomycin and intravenous metronidazole to prevent or treat antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *J Infect Dis* 1989; 159:1154-5.
179. Tedesco F., Markham R., Gurwith M., et al. Oral vancomycin for antibiotic-associated pseudomembranous colitis. *Lancet* 1978; 2:226-8.
180. Pasic M., Jost R., Carrel T., et al. Intracolonic vancomycin for pseudomembranous colitis. *N Engl J Med* 1993; 329:583.
181. Bublin J.G., Barton T.L. Rectal use of vancomycin. *Ann Pharmacother* 1994; 28:1357-8.
182. Cohen H., Brocavich J.M. Managing *Clostridium difficile* colitis in patients who lack oral access. *Infect Med* 1996; 13:101-9.
183. Lipsett P.A., Samantaray U.K., Tam M.L., et al. Pseudomembranous colitis: A surgical disease? *Surgery* 1994; 116:491-6.
184. Buggy B.P., Fekety R., Silva J. Jr Therapy of relapsing *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis with the combination of vancomycin and rifampin. *J Clin Gastroenterol* 1987; 9:155-9.
185. Tedesco F.J., Gordon D., Fortson W.C. Approach to patients with multiple relapses of antibiotic-associated

- pseudomembranous colitis. *Am J Gastroenterol* 1985; 80:867-8.
186. Moncino M.D., Falletta J.M. Multiple relapses of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a cancer patient. Successful control with long-term cholestyramine therapy. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1992; 14:361-4.
 187. Surawicz C.M., McFarland L.V., Greenberg R.N., Rubin M., Fekety R., Mulligan M.E., Garcia R.J., Brandmarker S., Bowen K., Borjal D., Elmer G.W. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis* 2000; 31:1012-7.
 188. Biller J.A., Katz A.J., Flores A.F., et al. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with *Lactobacillus* GG. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995; 21:224-6.
 189. Seal D., Borriello S.P., Barclay F., et al. Treatment of relapsing diarrhoeae by administration of a nontoxigenic strain. *Eur J Clin Microbiol* 1987; 6:51-3.
 190. Tjellstrom B., Stenhammar L., Eriksson S., Magnusson K.E. Oral immunoglobulin A supplement in treatment of *Clostridium difficile* enteritis. *Lancet* 1993; 341:701-2.
 191. Liacouras C.A., Piccoli D.A. Whole-bowel irrigation as an adjunct to the treatment of chronic, relapsing *Clostridium difficile* colitis. *J Clin Gastroenterol* 1996; 22:186-9.
 192. Tvede M., Rask-Madsen J. Bacteriotherapy for chronic relapsing *Clostridium difficile* diarrhea in six patients. *Lancet* 1989; 1:1156-60.
 193. McFarland L.V., Surawicz C.M., Greenberg R.N., Fekety R., Elmer G.W., et al. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *JAMA* 1994; 271:1913-8.
 194. Leung D.Y., Kelly C.P., Boguniewicz M., Pothoulakis C., LaMont J.T., Flores A. Treatment with intravenously administered gamma globulin of chronic relapsing colitis induced by *Clostridium difficile* toxin. *J Pediatr* 1991; 118:633-7.
 195. Salcedo J., Keates S., Pothoulakis C., et al. Intravenous immunoglobulin therapy for severe *Clostridium difficile* colitis. *Gut* 1997; 41:366-70.
 196. Marteau P.R., Vrese M., Cellier C.J., Schrenzenmeir J. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 2001; 73:430S-6S.
 197. Alvarez-Olmos M.I., Oberhelman R.A. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1567-76.
 198. Forestier C., De Champs C., Vatoux C., Joly B. Probiotic activities of *Lactobacillus casei* rhamnosus: in vitro adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Res Microbiol* 2001; 152:167-73.
 199. Castagliuolo I., Riegler M.F., Valenick L., LaMont J.T., Pothoulakis C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect Immun* 1999; 67:302-7.
 200. Hamilton-Miller J.M.T. Living in the «post-antibiotic era»: could the use of probiotics be an effective strategy? *Clin Microbiol Inf* 1997; 3:2-4.
 201. Orrhage K., Sjostedt S., Nord C.E. Effect of supplements with lactic acid bacteria and oligofructose on the intestinal microflora during administration of cefpodoxime proxetil. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46:603-12.